

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2003 年 12 月 18 日 (18.12.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/104491 A1

(51) 国際特許分類: C12Q 1/68, C12N 15/09

(21) 国際出願番号: PCT/JP03/07332

(22) 国際出願日: 2003 年 6 月 10 日 (10.06.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-168875 2002 年 6 月 10 日 (10.06.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社植物ゲノムセンター (PLANT GENOME CENTER CO., LTD.) [JP/JP]; 〒305-0856 茨城県 つくば市 観音台 1-2 5-2 Ibaraki (JP). 独立行政法人農業技術研究機構 (NATIONAL AGRICULTURAL RESEARCH ORGANIZATION) [JP/JP]; 〒305-8517 茨城県 つくば市 観音台 3-1-1 Ibaraki (JP).

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 美濃部 侑三 (MINOBE, Yuzo) [JP/JP]; 〒305-0856 茨城県 つくば市 観音台 1-2 5-2 株式会社植物ゲノムセンター内 Ibaraki (JP). 門奈 理佐 (MONNA, Lisa) [JP/JP]; 〒305-0856 茨城県 つくば市 観音台 1-2 5-2 株式会社植物ゲノムセンター内 Ibaraki (JP). 鈴木 淳子 (SUZUKI, Junko) [JP/JP]; 〒305-0856 茨城県 つくば市 観音台 1-2 5-2 株式会社植物ゲノムセンター内 Ibaraki (JP). 太田 理恵子 (OHTA, Rieko) [JP/JP]; 〒305-0856 茨城県 つくば市 観音台 1-2 5-2 株式会社植物ゲノムセンター内 Ibaraki (JP). 根本 博

(NEMOTO, Hiroshi) [JP/JP]; 〒305-8518 茨城県 つくば市 観音台 2-1-1 8 独立行政法人農業技術研究機構 作物研究所内 Ibaraki (JP). 出田 収 (IDETA, Osamu) [JP/JP]; 〒305-8518 茨城県 つくば市 観音台 2-1-1 8 独立行政法人農業技術研究機構 作物研究所内 Ibaraki (JP).

(74) 代理人: 清水 初志, 外 (SHIMIZU, Hatsushi et al.); 〒300-0847 茨城県 土浦市 卸町 1-1-1 関鉄つくばビル 6 階 Ibaraki (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: METHOD OF DISTINGUISHING RICE VARIETIES

(54) 発明の名称: イネの品種鑑別法

(57) Abstract: Polymorphism sites are searched for in 24 varieties grown in large areas in Japan and compared among the varieties. Thus, polymorphism markers for conveniently and quickly distinguishing these varieties are obtained. Since these markers show different patterns from variety to variety, it is possible to distinguish the varieties by combining these markers. Namely, molecular markers whereby 24 rice varieties can be distinguished are successfully obtained. Use of these markers makes it possible to distinguish and specify varieties which are analogous to each other at a DNA level.

(57) 要約: 日本国内で作付面積の多い 24 品種における多型部位を探索し、品種毎に比較した。そして、これらの品種を簡単かつ迅速に鑑別するための多型マーカーを取得した。該マーカーは、品種毎に異なるパターンを示し、組み合わせることによって品種の鑑別が可能であることが示された。つまり、イネ 24 品種の鑑定が可能な分子マーカーを取得することに成功した。該マーカーを利用することで、DNA レベルで近縁品種の識別・特定が可能となった。

WO 03/104491 A1

- 1 -

明細書

イネの品種鑑別法

5 技術分野

本発明は、イネの品種鑑別方法に関する。

背景技術

イネあるいは米の品種鑑別には草丈、分けつ数、出穂期などの栽培特性、粒形、
10 粒重、白度などの玄米・精米特性、および食味等の炊飯特性が従来利用されてき
た。また近年では、これらに加えて、RFLP（制限酵素断片長多型）や CAPS
（cleaved amplified polymorphic sequence）などの分子遺伝学的解析による分
別も可能となっている。しかし、栽培特性による鑑別には熟練した育種家の目が
必要であり、誰にでも鑑別できるというものではない。また玄米・精米特性では
15 統計的な解析が不可欠であり、炊飯特性ではある程度の量の米が必要であり、一
粒一粒の米を鑑別することは不可能であった。分子遺伝学的解析は原理上この問
題を解決したが、実際には、遠縁なものの識別には有効であるものの近縁品種間
の分子マーカーの確立が難しいため、識別は困難である。

一塩基多型（SNPs）とは、定義上は DNA 塩基配列上に存在する一塩基の差異で
20 あるが、実際には SSR（simple sequence repeat）や挿入・欠失変異も包含して
表すことが多く、RFLP、CAPS 等の分子マーカーで検出できる遺伝的差異や、形
質等に反映される遺伝的差異は全て SNPs に由来すると言っても過言ではない。
SNPs 研究と SNPs 判定系はこの数年で著しく進歩し、現在では電気泳動を全く必
要とせず、PCR から判定まで 96 ウェルプレート上で行うことのできる判定系も
25 開発されており、従来の分子マーカーに比べて格段に効率的に遺伝子型の判定が
可能になっている。

- 2 -

一方、食品流通過程における品質表示の信頼性が問題となっている昨今、米についてたとえばコシヒカリとして販売されている米の流通量が、全国のコシヒカリ作出量を上回るなど、米の流通過程で虚偽の表示が行われている可能性が否定できず、消費者あるいは小売業者の立場からも精米の正確な品種鑑別および混合割合の検定が望まれていた。

発明の開示

本発明は、このような状況に鑑みてなされたものであり、その目的は、イネ品種を迅速かつ簡便に鑑別可能な新しい方法を提供することにある。より詳細には、

10 多型マーカーを利用した、効率的なイネの品種鑑別方法の提供を目的とする。

本発明者らは上記の課題を解決するために鋭意研究を行った。まずイネゲノムシーケンスを利用し、イネゲノム塩基配列情報が公開されている染色体領域については、遺伝子が予測されていない領域を中心に、それ以外の領域については RFLP マーカープローブのシーケンス等を利用して、ゲノム DNA から 800bp~1kbp

15 を増幅するプライマーを設計した。設計したプライマーを用いてまず日本晴・コシヒカリ・カサラス・廣陸矮4号（以下 G4）、キタアケ、および野生イネ

（*Oryza rufipogon*, W1943）の簡易抽出 DNA を鋳型として PCR 増幅を行い、シーケンス反応の鋳型とした。この鋳型に対してサイクルシーケンスを行い、シーケンス用サンプルを作成した。得られたシーケンスデータを品種ごとに比較

20 し、一塩基置換多型を検索した。同一品種、同一プライマーに対し少なくとも 2 回のシーケンスを行い、確実であるもののみを多型と判定した。

日本晴・コシヒカリ間および日本晴・キタアケ間で多型の見られた部位について、日本晴・ハツシモ・むつほまれ・ゆきの精・きらら 397・つがるロマン・五百万石・森のくまさん・ゆめあかり・ハナエチゼン・コシヒカリ・月の光・あきたこまち・朝の光・あいちのかおり・祭り晴・ヒノヒカリ・夢つくし・ひとめば

25 れ・まなむすめ・ふさおとめ・どんとこい・キヌヒカリ・ササニシキの簡易抽出

- 3 -

ゲノム DNA を鋳型とし、同様に PCR 反応とシーケンシングを行い、多型部位の塩基を品種毎に比較した。

次いで、品種鑑別に有用な SNPs について、SNPs 検出用プライマーを設計し、AcycloPrime-FP キット (PerkinElmer) を用いて一塩基ターミネータ反応を行い、

5 ジェノタイピング用サンプルを作成した。ジェノタイピングは ARVO (Perkin Elmer) で蛍光偏光度を測定して行った。

その結果、シーケンスで SNPs と判定した箇所について作成したマーカーは、それぞれ異なるパターンを示し、組み合わせによってさまざまに分類できることが示された。つまり、イネ 24 品種の鑑定が可能な多型マーカーを取得すること

10 に成功した。

上記の如く本発明者らは、日本国内で作付面積の多い 24 品種における SNPs 部位を探索し、これらの品種を簡単かつ迅速に鑑別可能な多型マーカーを作成することにより、該多型マーカーを利用した新規なイネ品種鑑別方法を完成させた。本発明の方法を利用することで、DNA レベルで近縁品種の識別・特定が可能にな

15 る。

即ち本発明は、イネ品種を迅速かつ簡便に鑑別可能な新しい方法に関し、より具体的には、

〔1〕 以下の工程 (a) および (b) を含む、イネ品種を鑑別する方法。

(a) イネゲノムにおける以下の (1) ~ (28) のいずれかに記載の塩基部位、

20 または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における部位の塩基種を判定する工程、

(1) 配列番号：1 に記載の塩基配列の 5 9 3 位

(2) 配列番号：2 に記載の塩基配列の 3 0 4 位

(3) 配列番号：3 に記載の塩基配列の 4 5 0 位

25 (4) 配列番号：4 に記載の塩基配列の 3 7 7 位

(5) 配列番号：5 に記載の塩基配列の 1 6 3 位

- 4 -

(6) 配列番号：6に記載の塩基配列の6 2 4位

(7) 配列番号：7に記載の塩基配列の5 3 4位

(8) 配列番号：8に記載の塩基配列の3 5 8位

(9) 配列番号：9に記載の塩基配列の4 7 5位

5 (10) 配列番号：10に記載の塩基配列の3 2 3位

(11) 配列番号：11に記載の塩基配列の6 1 2位

(12) 配列番号：12に記載の塩基配列の7 6 5位

(13) 配列番号：13に記載の塩基配列の5 7 1位

(14) 配列番号：14に記載の塩基配列の6 6 0位

10 (15) 配列番号：15に記載の塩基配列の2 2 3位

(16) 配列番号：16に記載の塩基配列の2 4 7位

(17) 配列番号：17に記載の塩基配列の1 6 3位

(18) 配列番号：18に記載の塩基配列の4 2 1位

(19) 配列番号：19に記載の塩基配列の1 7 8位

15 (20) 配列番号：20に記載の塩基配列の1 4 1位

(21) 配列番号：21に記載の塩基配列の4 8 0位

(22) 配列番号：22に記載の塩基配列の4 8 1位

(23) 配列番号：23に記載の塩基配列の1 3 1位

(24) 配列番号：24に記載の塩基配列の5 1 0位

20 (25) 配列番号：25に記載の塩基配列の2 4 8位

(26) 配列番号：26に記載の塩基配列の9 2 位

(27) 配列番号：27に記載の塩基配列の7 4 3位

(28) 配列番号：28に記載の塩基配列の5 5 2位

(b) 上記工程 (a) により判定された塩基種と品種を関連付ける工程

25 [2] イネゲノムにおける以下の(1)～(28)のいずれかに記載の塩基変異を特徴とする多型マーカーを用いて塩基種の判定を行う、[1]に記載の方法、

- (1) 配列番号：1に記載の塩基配列の593位の塩基がT
(2) 配列番号：2に記載の塩基配列の304位の塩基がT
(3) 配列番号：3に記載の塩基配列の450位の塩基がA
(4) 配列番号：4に記載の塩基配列の377位の塩基がC
5 (5) 配列番号：5に記載の塩基配列の163位の塩基がC
(6) 配列番号：6に記載の塩基配列の624位の塩基がC
(7) 配列番号：7に記載の塩基配列の534位の塩基がC
(8) 配列番号：8に記載の塩基配列の358位の塩基がG
(9) 配列番号：9に記載の塩基配列の475位の塩基がG
10 (10) 配列番号：10に記載の塩基配列の323位の塩基がA
(11) 配列番号：11に記載の塩基配列の612位の塩基がA
(12) 配列番号：12に記載の塩基配列の765位の塩基がT
(13) 配列番号：13に記載の塩基配列の571位の塩基がT
(14) 配列番号：14に記載の塩基配列の660位の塩基がG
15 (15) 配列番号：15に記載の塩基配列の223位の塩基がA
(16) 配列番号：16に記載の塩基配列の247位の塩基がA
(17) 配列番号：17に記載の塩基配列の163位の塩基がA
(18) 配列番号：18に記載の塩基配列の421位の塩基がC
(19) 配列番号：19に記載の塩基配列の178位の塩基がG
20 (20) 配列番号：20に記載の塩基配列の141位の塩基がG
(21) 配列番号：21に記載の塩基配列の480位の塩基がC
(22) 配列番号：22に記載の塩基配列の481位の塩基がC
(23) 配列番号：23に記載の塩基配列の131位の塩基がC
(24) 配列番号：24に記載の塩基配列の510位の塩基がA
25 (25) 配列番号：25に記載の塩基配列の248位の塩基がT
(26) 配列番号：26に記載の塩基配列の92位の塩基がC

- 6 -

(27) 配列番号：27に記載の塩基配列の743位の塩基がG

(28) 配列番号：28に記載の塩基配列の552位の塩基がT

[3] 以下の(a)～(c)の工程を含む、[1]または[2]に記載の方法、

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

5 (b) [1]に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) 増幅したDNAの塩基配列を決定する工程

[4] 以下の(a)～(d)の工程を含む、[1]または[2]に記載の方法、

10 (a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) 調製したDNAを制限酵素により切断する工程

(c) DNA断片をその大きさに応じて分離する工程

(d) 検出されたDNA断片の大きさを対照と比較する工程

[5] 以下の(a)～(e)の工程を含む、[1]または[2]に記載の判定

15 方法、

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) [1]に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

20 (c) 増幅したDNAを制限酵素により切断する工程

(d) DNA断片をその大きさに応じて分離する工程

(e) 検出されたDNA断片の大きさを対照と比較する工程

[6] 以下の(a)～(e)の工程を含む、[1]または[2]に記載の判定方法、

25 (a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) [1]に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位

- 7 -

における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) 増幅したDNAを一本鎖に解離させる工程

(d) 解離させた一本鎖DNAを非変性ゲル上で分離する工程

5 (e) 分離した一本鎖DNAのゲル上での移動度を対照と比較する工程

[7] 以下の(a)～(f)の工程を含む、[1]または[2]に記載の判定方法、

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

10 (b) [1]に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む近傍の塩基配列と相補的なオリゴヌクレオチドに、レポーター蛍光とクエンチャー蛍光の2つを標識したプローブを2種類合成する工程

(c) 工程(a)で調製したDNAに、工程(b)で合成したプローブをハイブリダイズさせる工程

15 (d) [1]に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(e) レポーター蛍光の発光を検出する工程

(f) 工程(e)で検出したレポーター蛍光の発光を対照と比較する工程

20 [8] 以下の(a)～(h)の工程を含む、[1]または[2]に記載の判定方法、

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) [1]に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む3'側塩基配列と相

25 補的な配列、および全く無関係な配列を合わせたプローブを合成する工程

(c) [1]に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位

における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位から 5' 末端側が相補的な
プローブを合成する工程

(d) 工程 (c) で合成したプローブと工程 (a) で調製した DNA とハイブリ
ダイズさせる工程

5 (e) 工程 (d) でハイブリダイズした DNA を一本鎖 DNA 切断酵素で切断し、
工程 (b) で合成したプローブの一部を遊離させる工程

(f) 工程 (e) で遊離したプローブと、検出用プローブとをハイブリダイズさ
せる工程

(g) 工程 (f) でハイブリダイズした DNA を酵素的に切断し、その際に発生
10 する蛍光の強度を測定する工程

(h) 工程 (g) で測定した蛍光の強度を対照と比較する工程

[9] 以下の (a) ~ (f) の工程を含む、[1] または [2] に記載の判定
方法、

(a) 被検イネから DNA を調製する工程

15 (b) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位
における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する工
程

(c) 増幅した DNA を一本鎖に解離させる工程

(d) 解離させた一本鎖 DNA のうち、片鎖のみを分離する工程

20 (e) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位
における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の近傍より 1 塩基ずつ伸長
反応を行い、その際に生成されるピロリン酸を酵素的に発光させ、発光の強度を
測定する工程

(f) 工程 (e) で測定した蛍光の強度を対照と比較する工程

25 [10] 以下の (a) ~ (f) の工程を含む、[1] または [2] に記載の判
定方法、

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) [1]に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

5 (c) [1]に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1塩基隣までの配列に相補的なプライマーを合成する工程

(d) 蛍光ラベルしたヌクレオチド存在下で、工程(b)で増幅したDNAを鋳型とし、工程(c)で合成したプライマーを用いて一塩基伸長反応を行う工程

10 (e) 蛍光の偏光度を測定する工程

(f) 工程(e)で測定した蛍光の偏光度を対照と比較する工程

[11] 以下の(a)～(f)の工程を含む、[1]または[2]に記載の判定方法、

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

15 (b) [1]に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) [1]に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1塩基隣までの配列に相

20 補的なプライマーを合成する工程

(d) 蛍光ラベルしたヌクレオチド存在下で、工程(b)で増幅したDNAを鋳型とし、工程(c)で合成したプライマーを用いて一塩基伸長反応を行う工程

(e) シーケンサーを利用して、工程(d)で反応に使われた塩基種を判定する工程

25 (f) 工程(e)で判定された塩基種を対照と比較する工程

[12] 以下の(a)～(d)の工程を含む、[1]または[2]に記載の判

- 10 -

定方法、

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工

5 程

(c) 工程 (b) で増幅したDNAを質量分析器にかけ、分子量を測定する工程

(d) 工程 (c) で測定した分子量を対照と比較する工程

[13] 以下の (a) ~ (f) の工程を含む、[1] または [2] に記載の判定方法、

10 (a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) ヌクレオチドプローブが固定された基板を提供する工程

15 (d) 工程 (b) のDNAと工程 (c) の基板を接触させる工程

(e) 該DNAと該基板に固定されたヌクレオチドプローブとのハイブリダイズの強度を検出する工程

(f) 工程 (e) で検出された強度を対照と比較する工程

[14] 以下の工程 (a) および (b) をさらに含む、[1] ~ [13] のい

20 ずれかに記載の方法、

(a) アルカリ性の水性溶媒中でイネの種子を粉砕する工程、および

(b) 上記工程 (a) で粉砕した種子からイネゲノムDNAを抽出する工程

[15] 種子が精米されている [14] に記載の方法、

[16] イネの品種を鑑別するためのプライマー（もしくはイネ品種鑑別用試

25 薬）であって、

(a) イネゲノムにおける [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の

- 11 -

部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA 領域を増幅するためのオリゴヌクレオチド、または

(b) イネゲノムにおける〔1〕に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1塩

5 基隣までの配列に相補的な塩基配列を有するオリゴヌクレオチド、

〔17〕 〔1〕に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA 領域とハイブリダイズし、少なくとも15ヌクレオチドの鎖長を有する、イネの品種を鑑別するためのオリゴヌクレオチド（もしくはイネ品種鑑別用試薬）、

10 〔18〕 〔16〕または〔17〕に記載のオリゴヌクレオチドを含む、イネ品種鑑別用キット、

〔19〕 さらに、アルカリ性の水性溶媒を含む、〔18〕に記載のイネ品種鑑別用キット、を提供するものである。

15 本発明者らは、イネ24品種のゲノム配列を解析することにより、これらのイネの品種を正確に鑑別できる多型マーカーを見出した。本発明者らによって見出された、イネゲノムにおける多型部位を含む DNA 領域を配列番号：1～28に記載する。また、各多型部位の位置を図1～29および表8、9に記載する。

本発明は、イネの品種を鑑別する方法を提供する。本発明の方法は、まず、本
20 発明者らによって見出されたイネ24品種におけるゲノム上の多型部位について、塩基種の判定を行う。より具体的には、イネゲノムにおける以下の(1)～(28)のいずれかに記載の塩基部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における部位の塩基種を判定する（工程(A)）。

(1) 配列番号：1に記載の塩基配列の593位

25 (2) 配列番号：2に記載の塩基配列の304位

(3) 配列番号：3に記載の塩基配列の450位

- 1 2 -

- (4) 配列番号：4に記載の塩基配列の3 7 7位
(5) 配列番号：5に記載の塩基配列の1 6 3位
(6) 配列番号：6に記載の塩基配列の6 2 4位
(7) 配列番号：7に記載の塩基配列の5 3 4位
5 (8) 配列番号：8に記載の塩基配列の3 5 8位
(9) 配列番号：9に記載の塩基配列の4 7 5位
(10) 配列番号：10に記載の塩基配列の3 2 3位
(11) 配列番号：11に記載の塩基配列の6 1 2位
(12) 配列番号：12に記載の塩基配列の7 6 5位
10 (13) 配列番号：13に記載の塩基配列の5 7 1位
(14) 配列番号：14に記載の塩基配列の6 6 0位
(15) 配列番号：15に記載の塩基配列の2 2 3位
(16) 配列番号：16に記載の塩基配列の2 4 7位
(17) 配列番号：17に記載の塩基配列の1 6 3位
15 (18) 配列番号：18に記載の塩基配列の4 2 1位
(19) 配列番号：19に記載の塩基配列の1 7 8位
(20) 配列番号：20に記載の塩基配列の1 4 1位
(21) 配列番号：21に記載の塩基配列の4 8 0位
(22) 配列番号：22に記載の塩基配列の4 8 1位
20 (23) 配列番号：23に記載の塩基配列の1 3 1位
(24) 配列番号：24に記載の塩基配列の5 1 0位
(25) 配列番号：25に記載の塩基配列の2 4 8位
(26) 配列番号：26に記載の塩基配列の9 2 位
(27) 配列番号：27に記載の塩基配列の7 4 3位
25 (28) 配列番号：28に記載の塩基配列の5 5 2位
- 尚、当業者においては、通常、本明細書で示される塩基配列および多型部位等

に関する情報から、適宜、該多型部位に相当する実際のゲノム上の位置を知ること
とは容易である。例えば、公開されているゲノムデータベース等と照会すること
により、本発明の多型部位のゲノム上の位置を知ることができる。即ち、配列表
に掲げた塩基配列とゲノム上の実際の塩基配列との間に若干の塩基配列の相違が
5 みられた場合であっても、配列表に掲げた塩基配列を基にゲノム配列と相同検索
等を行うことにより、本発明の多型部位について、実際のゲノム上の位置を正確
に知ることが可能である。

 なお、ゲノムにおける DNA は、通常、互いに相補的な二本鎖 DNA 構造を有し
ている。従って、本明細書においては、便宜的に一方の鎖における DNA 配列を
10 示した場合であっても、当然の如く、当該配列（塩基）に相補的な配列も開示し
たものと解釈される。当業者にとって、一方の DNA 配列（塩基）が判れば、該
配列（塩基）に相補的な配列（塩基）は自明である。

 本発明における「多型」は、一塩基の置換、欠失、挿入変異からなる一塩基多
型 (SNPs) に限定されず、連続する数塩基の置換、欠失、挿入変異も含まれる。本
15 発明の「多型マーカー」とは、多型部位における塩基変異（多型変異）について
の情報を言う。より具体的には、本発明の多型マーカーとは、イネの品種である
「日本晴」のゲノム配列と他の品種のゲノム配列とを比較した際に見出される塩
基配列変異についての情報であり、イネ品種鑑別に利用可能なものを指す。本発
明において塩基種の判定に使用される多型マーカーとは、好ましくは、下記の
20 (1') ~ (28') で示す多型マーカーを指す。即ち、本発明の好ましい態様
においては、下記 (1') ~ (28') で示す多型マーカーを利用することによ
り、イネ品種の鑑別を行う。

 (1') 配列番号：1 に記載の塩基配列の 593 位の塩基が T。より詳しくは、
「日本晴」ゲノムにおける配列番号：1 に記載の塩基配列の 593 位の塩基部位
25 が、C から T への変異である。

 (2') 配列番号：2 に記載の塩基配列の 304 位の塩基が T。より詳しくは、

- 14 -

「日本晴」ゲノムにおける配列番号：2に記載の塩基配列の304位の塩基部位が、AからTへの変異である。

(3') 配列番号：3に記載の塩基配列の450位の塩基がA。より詳しくは、

「日本晴」ゲノムにおける配列番号：3に記載の塩基配列の450位の塩基部位

5 が、GからAへの変異である。

(4') 配列番号：4に記載の塩基配列の377位の塩基がC。より詳しくは、

「日本晴」ゲノムにおける配列番号：4に記載の塩基配列の377位の塩基部位

が、TからCへの変異である。

(5') 配列番号：5に記載の塩基配列の163位の塩基がC。より詳しくは、

10 「日本晴」ゲノムにおける配列番号：5に記載の塩基配列の163位の塩基部位

が、TからCへの変異である。

(6') 配列番号：6に記載の塩基配列の624位の塩基がC。より詳しくは、

「日本晴」ゲノムにおける配列番号：6に記載の塩基配列の624～626位の

塩基部位が、欠失変異である。

15 (7') 配列番号：7に記載の塩基配列の534位の塩基がC。より詳しくは、

「日本晴」ゲノムにおける配列番号：7に記載の塩基配列の534位の塩基部位

が、AからCへの変異である。

(8') 配列番号：8に記載の塩基配列の358位の塩基がG。より詳しくは、

「日本晴」ゲノムにおける配列番号：8に記載の塩基配列の358位と389位

20 の間の塩基部位への、GTの挿入変異である。

(9') 配列番号：9に記載の塩基配列の475位の塩基がG。より詳しくは、

「日本晴」ゲノムにおける配列番号：9に記載の塩基配列の475位の塩基部位

が、TからGへの変異である。

(10') 配列番号：10に記載の塩基配列の323位の塩基がA。より詳しく

25 くは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：10に記載の塩基配列の323位の

塩基部位が、GからAへの変異である。

- 15 -

(1 1') 配列番号：1 1に記載の塩基配列の6 1 2位の塩基がA。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：1 1に記載の塩基配列の6 1 2および6 1 3位の塩基部位が、CAからAGへの変異である。

5 (1 2') 配列番号：1 2に記載の塩基配列の7 6 5位の塩基がT。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：1 2に記載の塩基配列の7 6 5位の塩基部位が、GからTへの変異である。

(1 3') 配列番号：1 3に記載の塩基配列の5 7 1位の塩基がT。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：1 3に記載の塩基配列の5 7 1位の塩基部位が、GからTへの変異である。

10 (1 4') 配列番号：1 4に記載の塩基配列の6 6 0位の塩基がG。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：1 4に記載の塩基配列の6 6 0位の塩基部位が、AからGへの変異である。

15 (1 5') 配列番号：1 5に記載の塩基配列の2 2 3位の塩基がA。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：1 5に記載の塩基配列の2 2 3位の塩基部位が、GからAへの変異である。

(1 6') 配列番号：1 6に記載の塩基配列の2 4 7位の塩基がA。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：1 6に記載の塩基配列の2 4 7位の塩基部位が、GからAへの変異である。

20 (1 7') 配列番号：1 7に記載の塩基配列の1 6 3位の塩基がA。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：1 7に記載の塩基配列の1 6 3位の塩基部位が、GからAへの変異である。

(1 8') 配列番号：1 8に記載の塩基配列の4 2 1位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：1 8に記載の塩基配列の4 2 1位の塩基部位が、AからCへの変異である。

25 (1 9') 配列番号：1 9に記載の塩基配列の1 7 8位の塩基がG。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：1 9に記載の塩基配列の1 7 8位の

- 16 -

塩基部位が、欠失変異である。

(20') 配列番号：20に記載の塩基配列の141位の塩基がG。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：20に記載の塩基配列の141位の塩基部位が、AからGへの変異である。

- 5 (21') 配列番号：21に記載の塩基配列の480位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：21に記載の塩基配列の480位の塩基部位が、TからCへの変異である。

- (22') 配列番号：22に記載の塩基配列の481位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：22に記載の塩基配列の481位の塩基部位が、TからCへの変異である。
- 10

(23') 配列番号：23に記載の塩基配列の131位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：23に記載の塩基配列の131位の塩基部位が、GからCへの変異である。

- (24') 配列番号：24に記載の塩基配列の510位の塩基がA。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：24に記載の塩基配列の510位の塩基部位が、GからAへの変異である。
- 15

(25') 配列番号：25に記載の塩基配列の248位の塩基がT。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：25に記載の塩基配列の248位の塩基部位が、CからTへの変異である。

- 20 (26') 配列番号：26に記載の塩基配列の92位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：26に記載の塩基配列の92位の塩基部位が、GからCへの変異である。

- (27') 配列番号：27に記載の塩基配列の743位の塩基がG。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：27に記載の塩基配列の743位の塩基部位が、AからGへの変異である。
- 25

(28') 配列番号：28に記載の塩基配列の552位の塩基がT。より詳しく

- 17 -

くは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：28に記載の塩基配列の552位の塩基部位が、CからTへの変異である。

本発明において「塩基種を判定する」とは、通常、品種を鑑別したいイネ（以下「被検イネ」と記載する場合あり）のゲノム上の上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位における塩基の種類を決定することを指すが、必ずしも塩基の具体的な種類まで決定する必要はない。被検イネのゲノムにおける上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位の塩基種が具体的に決定できなくても、日本晴と同一か否かが判明すれば、イネ品種の鑑別を行うことが可能である。

本発明の方法においては、次いで、上記工程（A）により判定された塩基種と品種を関連付ける（工程（B））。

本発明に方法において、鑑別が可能なイネ品種は、次の通りである（本明細書においては各品種名をそれぞれ括弧内に示すように略記する場合あり）。日本晴（nhb）、ハツシモ（hts）、むつほまれ（mth）、ゆきの精（yki）、きらら397（krr）、つがるロマン（tgr）、五百万石（ghm）、森のくまさん（mnk）、ゆめあかり（yma）、ハナエチゼン（hez）、コシヒカリ（ksh）、月の光（tkh）、あきたこまち（akk）、朝の光（ash）、あいちのかおり（ank）、祭り晴（mtb）、ヒノヒカリ（hnh）、夢つくし（ymt）、ひとめぼれ（hit）、まなむすめ（mmm）、ふさおとめ（fom）、どんとこい（don）、キヌヒカリ（knh）、ササニシキ（ssk）、アケボノ（akb）、ゴロピカリ（grp）。

本発明の鑑別方法は、通常、品種が不明なイネについて上記の品種の中から品種名を特定する、もしくは、上記の品種であるか否かを判別するために利用することができる。

本発明者らは、上記のイネ品種について、イネゲノムにおける上記（1）～（28）に記載の部位の塩基種を決定し、多型マーカーを作成した。これらの多型マーカーの詳細（多型マーカーの名称、および、各イネ品種における上記（1）～（28）に記載の部位の塩基種）を表1に示す。

表 1

[illegible]

- 19 -

本発明においては、被検イネのゲノムにおける上記（１）～（２８）に記載の部位の塩基種を決定することにより、表１に示される各イネ品種における塩基種のデータに基づいてイネ品種を判定することができる。本発明の好ましい態様においては、上記（１'）～（２８'）に記載の多型マーカーを利用して塩基種の判定を行う。本方法においては、必ずしも上記（１）～（２８）の記載の全ての部位について塩基種を決定する必要はない。例えば、多型マーカー「S0124」を利用し、上記（１０）の配列番号：１０に記載の塩基配列の３２３位の塩基種の判定を行い、判定された塩基がＡ（アデニン）である場合には、被検イネの品種は、「きらら３９７」であると判定される。また、多型マーカー「S0126」および「S0015」を用いて塩基種の判定を行い、上記（９）の配列番号：９に記載の塩基配列の４７５位の塩基種がＧであり、かつ、上記（１）の配列番号：１に記載の塩基配列の５９３位の塩基種がＣである場合には、被検イネの品種は、「ゆきの精」であると判定される。このように、決定された被検イネゲノムの上記（１）～（２８）に記載の部位の塩基種から、本発明によって提供される表１に基づいてイネ品種を判定することは、当業者においては、容易に行い得ることである。

さらに本発明の方法においては、上記（１）～（２８）に記載の部位において必ずしも塩基種を決定する必要はなく、被検イネのゲノムにおける上記（１）～（２８）に記載の部位と塩基種が、日本晴における該部位の塩基種とが同一であるか否かを調べることにより、イネ品種の鑑別を行うことができる。本発明の好ましい態様においては、上記（１'）～（２８'）に記載の多型マーカーを利用して、被検イネのゲノムにおける上記（１）～（２８）に記載の部位の塩基種が、日本晴における該部位の塩基種と同一か否かに基づいてイネ品種の判定を行う。

本発明者らは、イネの上述した各品種について上記（１）～（２８）に記載の各部位の塩基種が、「日本晴」の該部位における塩基種と同一であるか否かを調べ、上述した各品種を鑑別可能な、多型マーカーの組み合わせを決定した（表２

- 20 -

～7)。表2～7の網掛けで示す部分が、各品種を鑑別可能な多型マーカーの組み合わせの例である。必ずしも表2～7に掲げた多型マーカーの組み合わせに限定されるものではなく、当業者においては、本発明によって提供される26品種のイネゲノムの上記(1)～(28)に記載の部位の塩基種についての情報から、
5 品種鑑別に用いることが可能な多型マーカーの組み合わせを適宜選択することが可能である。表中○は「日本晴」との一致を表し、×は「日本晴」との不一致を表す。

- 21 -

表2

マーカ-	日本晴	ハッシモ	むつほまれ	ゆきの精	きらら397
口口口口口	×	×	×	×	×
アケボノ	○	○	×	×	×
ササニシキ	×	×	×	×	×
キヌヒカリ	×	×	×	×	×
じんとこい	×	×	×	×	×
ふさおとめ	×	×	×	×	×
まなむすめ	×	×	×	×	×
ひとめぼれ	×	×	×	×	×
夢つくし	×	×	×	×	×
ヒノヒカリ	×	×	×	×	×
祭り晴	×	×	×	×	×
あいちのかおり	×	×	×	×	×
朝の光	×	×	×	×	×
あきたこまち	×	×	×	×	×
月の光	×	×	×	×	×
コシヒカリ	×	×	×	×	×
ハナエチゼン	×	×	×	×	×
ゆめあかり	×	×	×	×	×
森のくまさん	×	×	×	×	×
五百万石	×	×	×	×	×
つがるロマン	×	×	×	×	×
きらら397	×	×	×	×	×
ゆきの精	×	×	×	×	×
むつほまれ	×	×	×	×	×
ハッシモ	○	○	×	×	×
日本晴	○	○	×	×	×
S0107	○	○	×	×	×
S0177	○	○	×	×	×
S0185	○	○	×	×	×
S0070	○	○	×	×	×
S0161	○	○	×	×	×
S0109	○	○	×	×	×
S0126	○	○	×	×	×
S0015	○	○	×	×	×
S0124	○	○	×	×	×

表 4

[illegible]

- 27 -

例えば、被検イネについて、多型マーカー「S0135」を利用し、上記（12）の配列番号：12に記載の塩基配列の765位の塩基種の判定を行い、該部位の塩基種が「日本晴」における該部位の塩基種と不一致であり、かつ、多型マーカー「S0208」を用いて塩基種の判定を行い、上記（19）の配列番号：19に記載の塩基配列の178位の塩基種が「日本晴」と一致する場合には、被検イネの品種は、「ふさおとめ」とであると判定される。上記（1'）～（28'）に記載の各多型マーカーを用いて、上記（1）～（28）に記載の各塩基部位における塩基種の判定を行い、該部位における塩基種が、「日本晴」における該部位の塩基種と一致するか否かが判明すれば、表2～7を参照して、被検イネの品種を判定することは容易に行い得ることである。

本発明の上記工程（A）の塩基種の判定は、当業者においては、公知の塩基配列決定法もしくは多型変異検出法等により、実施することができる。例えば、本発明の好ましい態様において、下記のような方法により行うことができる。まず、被検イネからDNAを調製する。本発明において、被検イネとしては、例えば、上記イネの葉、根、種子、カルス、葉鞘、培養細胞等を挙げることができるが、これらに限定されない。また、当業者であれば、DNAを上記被検イネから抽出した染色体DNAを基に調製することができる。例えば、アルカリ性の水性溶媒中でイネの種子を粉碎し、次いで、粉碎した種子からイネゲノムDNAを抽出する方法を好適に示すことができるが、特にこの方法に制限されない。また上記種子は、精米されていることが好ましい。

本方法においては、次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する。本発明において、DNAの増幅方法としては、PCR法が挙げられるが、DNAを増幅できる方法であれば特に制限されない。

本方法においては、次いで、増幅したDNAの塩基配列を決定する。DNAの塩基配列の決定は、当業者に公知の方法で行うことができる。

- 28 -

本方法においては、次いで、決定した DNA の塩基配列を、対照と比較する。本方法における対照とは、通常、「日本晴」であり、配列番号：1～28に記載された配列である。あるいは、当業者においては、各種遺伝子データベースまたは文献等から野生型日本晴ゲノムの塩基配列情報を取得することも可能である。本方法においては、対照と比較することにより、被検イネのゲノムに多型を有するか否かの判定を行う。

本発明のイネ品種鑑別方法は、上記の如く直接被検イネ由来の DNA の塩基配列を決定する方法以外に、多型の検出が可能な種々の方法に従って行うことができる。例えば、本発明のイネ品種鑑別方法は、以下のような方法によって行うことも可能である。

まず、被検イネから DNA を調製する。次いで、調製した DNA を制限酵素により切断する。次いで、DNA 断片をその大きさに応じて分離する。次いで、検出された DNA 断片の大きさを対照と比較する。また、他の一つの態様においては、まず、被検イネから DNA を調製する。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する。さらに、増幅した DNA を制限酵素により切断する。次いで、DNA 断片をその大きさに応じて分離する。次いで、検出された DNA 断片の大きさを対照と比較する。

このような方法としては、例えば、制限酵素断片長多型（Restriction Fragment Length Polymorphism/RFLP）を利用した方法や PCR-RFLP 法等が挙げられる。具体的には、制限酵素の認識部位に変異が存在する場合、あるいは制限酵素処理によって生じる DNA 断片内に塩基挿入または欠失がある場合、制限酵素処理後に生じる断片の大きさが対照と比較して変化する。この変異を含む部分を PCR 法によって増幅し、それぞれの制限酵素で処理することによって、これらの変異を電気泳動後のバンドの移動度の差として検出することができる。あるいは、染色体 DNA をこれらの制限酵素によって処理し、電気泳動した後、本発明のオリ

- 29 -

ゴヌクレオチドを用いてサザンブロッティングを行うことにより、変異の有無を検出することができる。用いられる制限酵素は、それぞれの変異に応じて当業者においては適宜選択することができる。

- さらに別の方法においては、まず、被検イネから DNA を調製する。次いで、上
- 5 記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する。さらに、増幅した DNA を一本鎖に解離させる。次いで、解離させた一本鎖 DNA を非変性ゲル上で分離する。分離した一本鎖 DNA のゲル上での移動度を対照と比較する。

- 上記方法としては、例えば PCR-SSCP(single-strand conformation
- 10 polymorphism、一本鎖高次構造多型)法(Cloning and polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism analysis of anonymous Alu repeats on chromosome 11. Genomics. 1992 Jan 1; 12(1): 139-146.、
- Detection of p53 gene mutations in human brain tumors by single-strand conformation polymorphism analysis of polymerase chain reaction products.
- 15 Oncogene. 1991 Aug 1; 6(8): 1313-1318.、Multiple fluorescence-based PCR-SSCP analysis with postlabeling.、PCR Methods Appl. 1995 Apr 1; 4(5): 275-282.)が挙げられる。この方法は操作が比較的簡便であり、また被検試料の量も少なく済む等の利点を有するため、特に多数の DNA 試料をスクリーニング
- 20 するのに好適である。その原理は次の通りである。二本鎖 DNA 断片を一本鎖に解離すると、各鎖はその塩基配列に依存した独自の高次構造を形成する。この解離した DNA 鎖を、変性剤を含まないポリアクリルアミドゲル中で電気泳動すると、それぞれの高次構造の差に応じて、相補的な同じ鎖長の一本鎖 DNA が異なる位置に移動する。一塩基の置換によってもこの一本鎖 DNA の高次構造は変化し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動において異なる移動度を示す。従って、この移動度
- 25 の変化を検出することにより DNA 断片に点突然変異や欠失、あるいは挿入等による変異が存在することを検出することができる。

- 30 -

具体的には、まず、上記（１）～（２８）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を PCR 法等によって増幅する。増幅される範囲としては、通常 200～400bp 程度の長さが好ましい。PCR は、当業者においては反応条件等を適宜選択して行うことができる。

- 5 PCR の際に、³²P 等のアイソトープ、蛍光色素、またはビオチン等によって標識したプライマーを用いることにより、増幅 DNA 産物を標識することができる。あるいは PCR 反応液に ³²P 等のアイソトープ、蛍光色素、またはビオチン等によって標識された基質塩基を加えて PCR を行うことにより、増幅 DNA 産物を標識することも可能である。さらに、PCR 反応後にクレノウ酵素等を用いて、³²P 等のア
- 10 イソトープ、蛍光色素、またはビオチン等によって標識された基質塩基を、増幅 DNA 断片に付加することによっても標識を行うことができる。こうして得られた標識 DNA 断片を、熱を加えること等により変性させ、尿素などの変性剤を含まないポリアクリルアミドゲルによって電気泳動を行う。この際、ポリアクリルアミドゲルに適量（５から 10％程度）のグリセロールを添加することにより、DNA 断
- 15 片の分離の条件を改善することができる。また、泳動条件は各 DNA 断片の性質により変動するが、通常、室温（20 から 25℃）で行い、好ましい分離が得られないときには 4 から 30℃までの温度で最適の移動度を与える温度の検討を行う。電気泳動後、DNA 断片の移動度を、X線フィルムを用いたオートラジオグラフィ
- 20 ーや、蛍光を検出するスキャナー等で検出し、解析を行う。移動度に差があるバンドが検出された場合、このバンドを直接ゲルから切り出し、PCR によって再度増幅し、それを直接シーケンシングすることにより、変異の存在を確認することができる。また、標識した DNA を使わない場合においても、電気泳動後のゲルをエチジウムブロマイドや銀染色法などによって染色することによって、バンドを検出することができる。

- 25 さらに別の方法においては、まず、被検イネから DNA を調製する（工程（a））。次いで、上記（１）～（２８）のいずれかに記載の部位、または該部

- 31 -

位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA 近傍の塩基配列と相補的なオリゴヌクレオチドに、レポーター蛍光とクエンチャー蛍光の 2 つを標識したプローブを 2 種類合成する（工程（b））。次いで、工程（a）で調製した DNA に、工程（b）で合成したプローブをハイブリダイズさせる（工程（c））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する（工程（d））。次いで、レポーター蛍光の発光を検出する（工程（e））。次いで、工程（e）で検出したレポーター蛍光の発光を対照と比較する（工程（f））。

- 10 上記方法としては、TaqMan PCR 法（SNP 遺伝子多型の戦略、松原謙一・榊佳之、中山書店、p94-105、Genet Anal. (1999)14:143-149）等を挙げることができる。具体的には、まず、プローブの 5' 末端にレポーター蛍光を標識する。本発明において、レポーター蛍光としては、FAM や VIC などが例示できるが、これらに限定されない。さらに、上記プローブの 3' 末端にクエンチャー蛍光を標識する。
- 15 本発明において、クエンチャー蛍光としては、レポーター蛍光を消光できる物質であれば特に制限されない。次いで、レポーター蛍光とクエンチャー蛍光を標識したプローブを、調製した DNA にハイブリダイズさせる。通常、ハイブリダイズはストリンジেন্টな条件下で行う。ストリンジेंटな条件とは、例えば、通常、42℃、2×SSC、0.1% SDS の条件であり、好ましくは 50℃、2×SSC、0.1% SDS の条件であり、さらに好ましくは、65℃、0.1×SSC および 0.1% SDS の条件であるが、これらの条件に特に制限されない。ハイブリダイゼーションのストリンジエンシーに影響する要素としては温度や塩濃度など複数の要素が考えられ、当業者であればこれら要素を適宜選択することで最適なストリンジエンシーを実現することが可能である。
- 20
- 25 次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を、5' ヌクレアーゼ活

- 32 -

性を有する DNA ポリメラーゼを用いて増幅する。その結果、レポーター蛍光とクエンチャー蛍光を標識したプローブのレポーター蛍光標識部分が切断され、レポーター蛍光が遊離する。本発明において、5'ヌクレアーゼ活性を有する DNA ポリメラーゼとしては、好適には TaqDNA ポリメラーゼが例示できるが、これに限定
5 されるものではない。本方法においては、次いで、遊離したレポーター蛍光を検出し、さらに、該レポーター蛍光の発光を対照と比較する。

さらに別の方法においては、まず、被検イネから DNA を調製する（工程（a））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む 3' 側塩基配列と
10 相補的な配列、および全く無関係な配列を合わせたプローブを合成する（工程（b））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位から 5' 末端側が相補的なプローブを合成する（工程（c））。次いで、工程（c）で合成したプローブと工程（a）で調製した DNA とハイブリダイズさせる（工程（d））。次いで、
15 工程（d）でハイブリダイズした DNA を一本鎖 DNA 切断酵素で切断し、工程（b）で合成したプローブの一部を遊離させる（工程（e））。本発明において、一本鎖 DNA 切断酵素としては、特に制限はなく、例えば下記の cleavase が例示できる。本方法においては、次いで、工程（e）で遊離したプローブと、検出用プローブとをハイブリダイズさせる（工程（f））。次いで、工程（f）でハイ
20 プリダイズした DNA を酵素的に切断し、その際に発生する蛍光の強度を測定する（工程（g））。次いで、工程（g）で測定した蛍光の強度を対照と比較する（工程（h））。

上記方法としては、例えば、Invader 法（SNP 遺伝子多型の戦略、松原謙一・榊佳之、中山書店、p94-105、Genome Research（2000）10:330-343）等が挙げら
25 れる。具体的には、まず、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位から 3' 側が鋳型

- 33 -

- と相補的な配列であり、5'側が鋳型配列と無関係な配列（フラップ）を有するプローブ（プローブ A）を合成する。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位から5'側が鋳型と相補的な配列を有するプローブ（プローブ B）を合成する。プローブ B においては、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位に対応する塩基は任意でよい。次いで、これらプローブを調製した鋳型 DNA にハイブリダイズさせる。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位に対応するプローブ B の塩基が侵入することで、5'末端がフラップ状になっている部分を認識して、該部位に対応するプローブ A の塩基の3'側を切断するエンドヌクレアーゼ（cleavase）を用いてハイブリダイズした DNA を切断する。これにより、フラップ部分が遊離する。次いで、遊離したフラップ部分と検出用プローブをハイブリダイズさせる。該検出用プローブは、一般的に fluorescence resonance energy transfer (FRET) プローブとよばれる。該プローブにおいて、5'側は自身で相補的に結合できる。また、3'側はフラップと相補的な配列を有している。また、自身で相補的に結合できる5'側において、5'末端にはレポーター蛍光が標識され、該5'末端の3'側にはクエンチャー蛍光が標識されている。遊離したフラップの3'末端の塩基が、FRET プローブにハイブリダイズする結果、該プローブのレポーター蛍光が標識された相補結合部位に侵入することで、cleavase が認識する構造が生成される。本方法においては、cleavase によるレポーター蛍光標識部分の切断によって遊離したレポーター蛍光を検出し、さらに、測定した蛍光の強度を対照と比較する。
- さらに別の方法においては、まず、被検イネから DNA を調製する（工程（a））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する（工程（b））。次いで、増幅した DNA を一本鎖に解離させる（工程（c））。

- 34 -

次いで、解離させた一本鎖 DNA のうち、片鎖のみを分離する（工程（d））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の近傍より 1 塩基ずつ伸長反応を行い、その際に生成されるピロリン酸を酵素的に発光させ、発光の強度を測定する（工程（e））。次いで、工程（e）で測定した蛍光の強度を対照と比較する（工程（f））。このような方法としては、例えば、Pyrosequencing 法（Anal. Biochem. (2000)10:103-110）等が挙げられる。

さらに別の方法においては、まず、被検イネから DNA を調製する（工程（a））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する（工程（b））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の 1 塩基隣までの配列に相補的なプライマーを合成する（工程（c））。次いで、蛍光ラベルしたヌクレオチド存在下で、工程（b）で増幅した DNA を鋳型とし、工程（c）で合成したプライマーを用いて一塩基伸長反応を行う（工程（d））。次いで、蛍光の偏光度を測定する（工程（e））。次いで、工程（e）で測定した蛍光の偏光度を対照と比較する（工程（f））。このような方法としては、例えば、Acyclo Prime 法（Genome Research (1999)9:492-498）等が挙げられる。

Acyclo Prime 法では、ゲノム増幅用のプライマー 1 組と、SNPs 検出用の 1 つのプライマーを用いる。まず、ゲノムの SNPs を含む領域を PCR で増幅する。この工程は、通常のゲノム PCR と同じである。次に、得られた PCR 産物に対して、多型検出用のプライマーをアニールさせ、伸長反応を行う。多型検出用のプライマーは、検出対象となっている多型部位に隣接する領域にアニールするようにデザインされている。このとき、通常、伸長反応のためのヌクレオチド基質として、蛍光偏光色素でラベルし、かつ 3'-OH をブロックしたヌクレオチド誘導体（ターミネータ）を用いる。その結果、多型部位に相当する位置の塩基に相補的な塩基

- 3 5 -

が1塩基だけ取りこまれて伸長反応が停止する。ヌクレオチド誘導体のプライマーへの取りこみは、分子量の増大による蛍光偏光(Fluorescence polarization;FP)の増加によって検出することができる。蛍光偏光色素に波長の異なる2種類のラベルを用いれば、特定の多型が2種類の塩基のうちのいずれであるのかを特定することができる。蛍光偏光のレベルは定量することができるので、1度の解析でアレルがホモかヘテロかを判定することもできる。本発明の方法における上記工程(A)は、Acyclo Prime法を利用して好適に実施することができる。

Acyclo Prime法に使用されるゲノム増幅用プライマー、および多型検出用プライマーは、当業者においては、ゲノム配列および多型部位に関する情報を基に、適宜作製することが可能である。Acyclo Prime法を利用した本発明のイネ品種鑑別方法に使用されるゲノム増幅用プライマー、および多型検出用プライマーとして、例えば、表8および9に記載されたプライマーを挙げることができるが、これらのプライマーに限定されるものではない。

第 8 表

ゲノミック PCR										多型 (SNP) 検出				
品名	cM	マーカー名	プライマーの塩基配列 (5'-3')		配列番号	サイズ	配列番号	位置	プライマーの塩基配列 (5'-3')	配列番号	ターミネーター	SNPs		
1	96.1	S0015	GCA ATT GCC ACT GGA AGA AT	29	803	1	593	AGG TCG ACA GTT	85	C/T	日本晴	日本晴以外		
			TAA GTT GGG GAA TGC GAT GT	30	bp			C					T	
3	20.3	S0040	TCT GCT GCC TCT GCA CAT AC	31	902	2	304	GAA CAG CTG TAA	86	A/T	日本晴	日本晴以外		
			AAA AAC GAC ACC ACA TCA GCA	32	bp			T					A	
3	69.2	S0279	GGG GCG CTC CTT CAA AAC TT	33	796	3	450	GAT GCC TGC AAA	87	C/T	日本晴	日本晴以外		
			GGT TTG GCA CAC CAC AAT GG	34	bp			C					T	
3	146.4	S0044	TGC AAT GTG CCA TTC CAT AG	35	901	4	377	CGC AAA CCA TCA	88	C/T	日本晴	日本晴以外		
			TAT GAC AAG GTG GGC CCT AA	36	bp			T					C	
6	19.1	S0252	GCG CAC AGA ACG GAC AAA AG	37	804	5	163	CGA TTG GCA GAT	89	C/T	日本晴	日本晴以外		
			GAC CAA TCC TTT GCG GAA GC	38	bp			T					C	
7	35.7	S0109	CCG ATG GCA GCA CAA ATC TT	39	850	6	624	TGG CTA GAA GTA	90	C/T	日本晴	日本晴以外		
			TCA GTT TGG CTT GGG TGT CC	40	bp			T					C	
7	84.1	S0115	CCA TTG GTT GGT GTG GCT GT	41	784	7	534	AAA CAG GTG AGG	91	G/T	日本晴	日本晴以外		
			TGG TCG CCG CTG ATA AGC TA	42	bp			T					G	
7	91.7	S0107	TGC GAT GGA GGG AGT ATT GG	43	808	8	358	GAG TGA AAA GTT	92	A/G	日本晴	日本晴以外		
			TGC GAG CGT ACA CCG CTA GT	44	bp			A					G	
7	99.3	S0126	GCT TGA GGC ACG TCA AAA TG	45	791	9	475	CAT GAA ATT ATT	93	G/T	日本晴	日本晴以外		
			TTG CGT CGT TCA TGT TGG TC	46	bp			T					G	
7	105.7	S0124	CCC ACG GAA ACA GCC AAA AG	47	956	10	323	AGC ACC TCC CCC	94	A/G	日本晴	日本晴以外		
			TGC TGC CAT GCA AAG AAT CG	48	bp			G					A	
8	20.2	S0146	ATT CGA ACG GGG GAT CCA GT	49	859	11	612	GGG ACT AGC CCG	95	A/C	日本晴	日本晴以外		
			AGC GGA TCC TGC TGA TGA GG	50	bp			C					A	
8	44.6	S0135	GTG CTG CAA AGG GGA GTA TG	51	852	12	765	GAG AGT CGA GAT	96	G/T	日本晴	日本晴以外		
			CGC CAA CCT CGT AAA TCA AA	52	bp			G					T	
9	55.9	S0155	GAA CCT GAG GAC CAA GTG AAA GAG T	53	1300	13	571	CAG CTA TAG CCT	97	G/T	日本晴	日本晴以外		
			CTA GAG AGG AGA GGG AGA AGG AG A	54	bp			G					T	
10	5.5	S0161	ATA CCA CAG GTG CTG CGT GA	55	340	14	660	GAA GAC AGC TTC	98	A/G	日本晴	日本晴以外		
			TGC GCA ACT AGG GAT TTT CC	56	bp			A					G	

- 37 -

表9

ゲノミック PCR										多型 (SNP) 検出				
品名	cM	マーカー名	プライマーの塩基配列(5'-3')			配列番号	サイズ	位置	プライマーの塩基配列(5'-3')		配列番号	ターミネーター	SNPs	
11	20.3	S0177	CCT TGT GGT CAC ACT TGC GG	57	20	488	bp	223	AAC GTC ATG GAC GAT	20	99	A/G	日本晴 G	
			CGG TCT TGA GGT CCA GGG TG	58	20	CGG CT			日本晴以外 A					
11	35.6	S0178	TGG CAT CTT TGC ATG TTG AGC	59	21	460	bp	247	GCC ATG AAA GCA CTG	20	100	C/T	日本晴 C	
			GCA TCC AGC TGC ACA TTT CC	60	20	AAA AA			日本晴以外 T					
11	80.5	S0174	GAA TCG GTT GCA GGA GAG GG	61	20	311	bp	163	TTG AGT TCT TGG GGA	20	101	A/G	日本晴 G	
			GGG GCT ATG CCA TGT TTT TAC C	62	22	TTT GT			日本晴以外 A					
11	85.7	S0185	CGA CCC CAT GAA GCT TTT GC	63	20	644	bp	421	TGT TAC AAG CAA AGC	25	102	A/C	日本晴 A	
			AAA TCC ACG ACC TCC ACC CCT	64	21	ATG AGG AAT G			日本晴以外 C					
12	42.7	S0208	CTC CTT CGG CTC CCA GAA AT	65	20	500	bp	178	AGC TCG AGC TCG AAG	20	103	C/G	日本晴 C	
			ATT TTG GTG GAG CGT CCC CT	66	20	ATG GC			日本晴以外 G					
1	181.8	S0007	GCA TGG ATG ACC CTG CTA AT	67	20	802	bp	141	CAA ACA TTT AAA ATA	28	104	A/G	日本晴 A	
			TGA TGC CGT TGA CTT TTT GA	68	20	TAA ATC ATG AAT A			日本晴以外 G					
5	55.5	S0070	CTT GCT TGG GCA ATC GTC AA	69	20	897	bp	480	TAA GCC CCC GGC CGA	25	105	A/G	日本晴 A	
			GTT GCT GAC GCG ACC AGT GT	70	20	ACC GGC AAA G			日本晴以外 G					
8	40.2	S0310	GCT TTC CTT GTT TGA CCA CTC G	71	22	802	bp	481	GAC TAC AAT CTT CCA	20	106	C/T	日本晴 T	
			CCA TTT TCA TGT GGT GGC TTG	72	21	CTC CA			日本晴以外 C					
4	97.7	S0375	ACA CAA GTG TGC CAT TTT GC	73	20	901	bp	131	TGT GAA CTA CAC TAT	26	107	G/C	日本晴 G	
			TGC CAA GCT ACC TGA GAA CA	74	20	TTA GTT GCT TA			日本晴以外 C					
11	35.6	S0346	CGT GCT TGG ATT TTT GTA AGC	75	21	677	bp	510	CTG GGA CTT GGA ATG	21	108	G/A	日本晴 G	
			GCA TCC AGC TGC ACA TTT CC	76	20	TTT GTT			日本晴以外 A					
1	161.5	S0013	AAA TTC GGA ATG GCT AGC TG	77	20	798	bp	248	GCT AAT GTG AAT TAG	22	109	C/T	日本晴 C	
			ACC TCC GAT GAT TCA ACC AA	78	20	CCC CCC T			日本晴以外 T					
11	55.1	S0347	CAA GCG AAG ACT GGA GAG GTT	79	21	292	bp	92	AGT TTA ACT ATA TAT	28	110	G/C	日本晴 C	
			ACG TGC TGG CCT CCT ATG TT	80	20	AGC ATA CTG ATT C			日本晴以外 G					
3	94.9	S0330	ATC AAG CAC GAT GCG AAA CG	81	20	888	bp	743	CAT CTT ATG GTT TAG	23	111	A/G	日本晴 A	
			ATG GCG GTG GAC TCC AAG TT	82	20	GAG GAA TT			日本晴以外 G					
8	55.4	S0336	GAC CAA ATT GTT TCG CCC CTA	83	21	787	bp	552	GTC TAT TTG GTA CCA	21	112	C/T	日本晴 C	
			GCC TTC GAG TGG TTT GAC GA	84	20	CTT TCT			日本晴以外 T					

- 38 -

さらに別の方法においては、まず、被検イネから DNA を調製する（工程（a））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する（工程（b））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の 1 塩基隣までの配列に相補的なプライマーを合成する（工程（c））。次いで、蛍光ラベルしたヌクレオチド存在下で、工程（b）で増幅した DNA を鋳型とし、工程（c）で合成したプライマーを用いて一塩基伸長反応を行う（工程（d））。次いで、シーケンサーを利用して、工程（d）で反応に使われた塩基種を判定する（工程（e））。次いで、工程（e）で判定された塩基種を対照と比較する（工程（f））。このような方法として、例えば、SNUPe 法 (Rapid Commun Mass Spectrom. (2000)14:950-959) 等が挙げられる。

さらに別の方法においては、まず、被検イネから DNA を調製する（工程（a））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する（工程（b））。次いで、工程（b）で増幅した DNA を質量分析器にかけ、分子量を測定する（工程（c））。次いで、工程（c）で測定した分子量を対照と比較する（工程（d））。このような方法としては、例えば、MALDI-TOF MS 法 (Trends Biotechnol (2000):18:77-84) 等が挙げられる。

さらに別の方法においては、まず、被検イネから DNA を調製する（工程（a））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する（工程（b））。次いで、ヌクレオチドプローブが固定された基板を提供する（工程（c））。

本発明において「基板」とは、ヌクレオチドを固定することが可能な板状の材料を意味する。本発明においてヌクレオチドには、オリゴヌクレオチドおよびポ

リヌクレオチドが含まれる。本発明の基板は、ヌクレオチドを固定することが可能であれば特に制限はないが、一般に DNA アレイ技術で使用する基板を好適に用いることができる。一般に DNA アレイは、高密度に基板にプリントされた何千ものヌクレオチドで構成されている。通常これらの DNA は非透過性(non-

5 porous)の基板の表層にプリントされる。基板の表層は、一般的にはガラスであるが、透過性(porous)の膜、例えばニトロセルロースメンブレンを使用することができる。

本発明において、ヌクレオチドの固定(アレイ)方法として、Affymetrix 社開発によるオリゴヌクレオチドを基本としたアレイが例示できる。オリゴヌクレ
10 オチドのアレイにおいて、オリゴヌクレオチドは通常インサイチュ(in situ)で合成される。例えば、photolithographic の技術(Affymetrix 社)、および化学物質を固定させるためのインクジェット(Rosetta Inpharmatics 社)技術等によるオリゴヌクレオチドのインサイチュ合成法が既に知られており、いずれの技術も本発明の基板の作製に利用することができる。

15 基板に固定するヌクレオチドプローブは、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の多型を検出することができるものであれば、特に制限されない。即ち該プローブは、例えば、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA と特異的にハイブリ
20 リダイズするようなプローブである。特異的なハイブリダイズが可能であれば、ヌクレオチドプローブは、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA に対し、完全に相補的である必要はない。本発明において基板に結合させるヌクレオチド
25 プローブの長さは、オリゴヌクレオチドを固定する場合は、通常 10～100 ベースであり、好ましくは 10～50 ベースであり、さらに好ましくは 15～25 ベースである。

- 40 -

本方法においては、次いで、工程（b）の DNA と工程（c）の基板を接触させる（工程（d））。本工程により、上記ヌクレオチドプローブに対し、DNA をハイブリダイズさせる。ハイブリダイゼーションの反応液および反応条件は、基板に固定するヌクレオチドプローブの長さ等の諸要因により変動しうるが、一般的に当業者に周知の方法により行うことができる。

本方法においては、次いで、該 DNA と該基板に固定されたヌクレオチドプローブとのハイブリダイズの強度を検出する（工程（e））。この検出は、例えば、蛍光シグナルをスキャナー等によって読み取ることによって行うことができる。尚、DNA アレイにおいては、一般的にスライドガラスに固定した DNA をプローブ
10 といい、一方溶液中のラベルした DNA をターゲットという。従って、基板に固定された上記ヌクレオチドを、本明細書においてヌクレオチドプローブと記載する。本方法においては、次いで、工程（e）で検出された強度を対照と比較する（工程（f））。

このような方法としては、例えば、DNA アレイ法（SNP 遺伝子多型の戦略、松
15 原謙一・榊佳之、中山書店、p128-135、Nature Genetics(1999)22:164-167）等が挙げられる。

上記の方法以外にも、特定位置の変異のみを検出する目的にはアレル特異的オリゴヌクレオチド（Allele Specific Oligonucleotide/ASO）ハイブリダイゼーション法が利用できる。変異が存在すると考えられる塩基配列を含むオリゴヌクレオチドを作製し、これと DNA でハイブリダイゼーションを行わせると、変異が
20 存在する場合、ハイブリッド形成の効率が低下する。それをサザンブロット法や、特殊な蛍光試薬がハイブリッドのギャップにインターカレーションすることにより消光する性質を利用した方法等により検出することができる。

また本発明は、イネの品種を鑑別するためのプライマーであって、上記（1）
25 ～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA 領域を増幅するためのオリゴヌクレオチド

を提供する。このようなオリゴヌクレオチドとしては、上記の（１）～（２８）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を挟むように設計されたオリゴヌクレオチドが挙げられる。PCR プライマーの設計および合成については、一般的に当業者に周知の方法により行うことができる。また、PCR プライマーの長さは、特に制限はないが、通常 15bp～100bp であり、好ましくは 17bp～30bp である。また本発明は、上記（１）～

（２８）のいずれかに記載の部位もしくは該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の 1 塩基隣までの配列に相補的な塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを提供する。該オリゴヌクレオチドは、例えば、Acyclo Prime 法を用いる本発明のイネ品種鑑別方法のためのプライマーとして有用である。このようなオリゴヌクレオチドとして、例えば、表 8 または 9 に示されるオリゴヌクレオチドを挙げることができる。

さらに本発明は、上記（１）～（２８）のいずれかに記載の部位もしくは該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA 領域とハイブリダイズし、少なくとも 15 ヌクレオチドの鎖長を有する、イネ品種鑑別方法のためのオリゴヌクレオチドを提供する。該オリゴヌクレオチドは、例えばプローブとして使用される。

該オリゴヌクレオチドは、上記（１）～（２８）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA 領域に特異的にハイブリダイズするものである。ここで「特異的にハイブリダイズする」とは、通常のハイブリダイゼーション条件下、好ましくはストリンジেন্টなハイブリダイゼーション条件下（例えば、サンプブルックら, Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA, 第 2 版 1989 に記載の条件）において、他の DNA とクロスハイブリダイゼーションを有意に生じないことを意味する。特異的なハイブリダイズが可能であれば、該オリゴヌクレオチドは、上記（１）～（２８）のいずれかに記載の部位、または該部位における

- 42 -

塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA 領域に対し、完全に相補的である必要はない。該オリゴヌクレオチドの長さは、15 ヌクレオチド以上であれば、特に制限はない。該オリゴヌクレオチドは、例えば市販のオリゴヌクレオチド合成機により作製することができる。また、制限酵素処理等によって取得

5 される二本鎖 DNA 断片として作製することもできる。

また、該オリゴヌクレオチドは、適宜標識して用いることが好ましい。標識する方法としては、例えば、T4 ポリヌクレオチドキナーゼを用いてオリゴヌクレオチドの 5' 端を ^{32}P でリン酸化することにより標識する方法、クレノウ酵素等の DNA ポリメラーゼを用いてランダムヘキサマーオリゴヌクレオチド等をプライマー

10 ーとして ^{32}P 等のアイソトープ、蛍光色素、またはビオチン等によって標識された基質塩基を取り込ませる方法（ランダムプライム法）等を挙げることができる。さらに、上記の（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位において、上記（1'）～（28'）に記載の多型変異を伴う少なくとも 15 ヌクレオチドの鎖長を有するオリ

15 ゴヌクレオチドもまた本発明に含まれる。

さらに本発明は、本発明の上記オリゴヌクレオチドを含む、イネ品種鑑別用キットを提供する。本発明のキットには、さらに、アルカリ性の水性溶媒を含めることができる。また、対照となる標準イネ試料、キットの使用方法を記載した指示書等をパッケージしておくこともできる。

20

図面の簡単な説明

図 1 は、配列番号：1 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

25

図 2 は、配列番号：2 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す

図である。

図 3 は、配列番号：3 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

5 図 4 は、配列番号：4 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 5 は、配列番号：5 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す
10 図である。

図 6 は、配列番号：6 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 7 は、配列番号：7 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す
15 図である。

図 8 は、配列番号：8 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

20 図 9 は、配列番号：9 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 10 は、配列番号：10 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す
25 図である。

図 11 は、配列番号：11 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出さ

れた多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 1 2 は、配列番号：1 2 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 1 3 は、配列番号：1 3 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位を示す図である。

図 1 4 は、配列番号：1 4 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 1 5 は、配列番号：1 5 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 1 6 は、配列番号：1 6 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 1 7 は、配列番号：1 7 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 1 8 は、配列番号：1 8 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 1 9 は、配列番号：1 9 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位を示す図である。

図 2 0 は、配列番号：2 0 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を

示す図である。

図 2 1 は、配列番号：2 1 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

- 5 図 2 2 は、配列番号：2 2 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 2 3 は、図 2 2 の続きの図である。

- 10 図 2 4 は、配列番号：2 3 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 2 5 は、配列番号：2 4 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

- 15 図 2 6 は、配列番号：2 5 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 2 7 は、配列番号：2 6 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位を示す図である。

- 20 図 2 8 は、配列番号：2 7 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

図 2 9 は、配列番号：2 8 で示す塩基配列における、イネ 2 4 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

25

図 3 0 は、精米から抽出した DNA を鋳型とした PCR の結果を示す写真である。

- 46 -

精米サンプルは、平成 12 年産の茨城県産あきたこまちと表示のある市販の米である。使用した PCR プライマーは、PGC1001 (U:5'- accgggtagggaacaaaac -3' /配列番号: 1 1 3、L:5'- aataatacttcggcgcatcg -3' /配列番号: 1 1 4) である。以下の方法で抽出した DNA を鋳型として PCR 反応を行い、反応液を 1.5%

5 アガロースゲル電気泳動により分離した。

M: 分子量マーカー (φX/HaeIII)

1: 方法 1 (CTAB 法)

2: 方法 2 (アルカリ+CTAB 法)

3: 方法 3 (簡易抽出法)

10 4: 方法 4 (簡易抽出法+フェノール・クロロホルム処理)

5: 方法 5 (アルカリ+簡易抽出法)

6: 方法 6 (アルカリ+簡易抽出法+フェノール・クロロホルム処理)

7: 対照 (ハバタキ緑葉より CTAB 法で抽出した DNA、40ng)

8: 対照 (ササニシキ緑葉より CTAB 法で抽出した DNA、40ng)

15

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を実施例により、さらに具体的に説明するが本発明はこれら実施例に制限されるものではない。

20 [実施例 1] 多型 (SNPs) の検出

Rice Genome Research Program のホームページ

(<http://rgp.dna.affrc.go.jp/>) 上で公開されているイネゲノム解析情報、および DDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>) に登録されているイネゲノムシーケンスを利用し、イネゲノム塩基配列情報が公開されている染色体領域については、

25 遺伝子が予測されていない領域を中心に、それ以外の領域については RFLP マーカープローブのシーケンス等を利用して、ゲノム DNA から 800bp~1kbp を増幅す

- 47 -

るプライマーを設計した。プライマー設計には、プライマー設計支援サイト Primer3 (http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi) を利用した。

設計したプライマーをもちいてまず日本晴・コシヒカリ・カサラス・廣陸矮4
5 号（以下 G4）、キタアケ、および野生イネ（*Oryza rufipogon*, W1943）の簡易抽出 DNA を鋳型として Ampli Taq Gold (Applied Biosystems) で PCR 増幅を行った。反応液の一部を用いてアガロースゲル電気泳動を行い増幅断片を確認した後、残りの反応液を ExoSAP-IT (Amersham Biosciences) 処理して未反応のプライマーと dNTP を取り除き、シーケンス反応の鋳型とした。この鋳型に対して、最初
10 増幅に用いたプライマーの片方を再度添加し、DYEnamic ET Dye Terminator Cycle Sequencing kit for MegaBACE (Amersham Biosciences) を用いてサイクルシーケンスを行い、シーケンス用サンプルを作成した。シーケンスは MegaBACE 1000 DNA Sequencing System (Molecular Dynamics) を用いて行った。得られたシーケンスデータを品種ごとに比較し、一塩基置換多型を検索
15 した。同一品種、同一プライマーに対し少なくとも 2 回のシーケンスを行い、確実であるもののみを多型と判定した。

日本晴・コシヒカリ間および日本晴・キタアケ間で多型の見られた部位について、日本晴・ハツシモ・むつほまれ・ゆきの精・きらら 397・つがるロマン・五百万石・森のくまさん・ゆめあかり・ハナエチゼン・コシヒカリ・月の光・あきたこまち・朝の光・あいちのかおり・祭り晴・ヒノヒカリ・夢つくし・ひとめぼ
20 れ・まなむすめ・ふさおとめ・どんとこい・キヌヒカリ・ササニシキの簡易抽出ゲノム DNA を鋳型とし、同様に PCR 反応とシーケンシングを行い、多型部位の塩基を品種毎に比較した。上記イネ 24 品種間に見出された多型を図 1～28 に示す。多型データは以下のような規則に従って記載した。

25

《データ記載様式》

- 48 -

1. プライマー部位にカッコで印をつけ、Upper primer site には” p:”、
Lower primer site には” q:” を付け加えた。

例: actctacttta a[p:gcagagcga tgaacctgca] atattgagaa
aactc [q:aatcacgccc atccttgcct]

5

2. SNPs 部位にはカッコと識別番号をつけた。

例: cg[1a]agag[2aa]cttc[3a[4c4]cattt gggg[5c5]acac3]c

※基本的に、識別番号は始めのカッコと終わりのカッコの両方につけた。

ただし、明らかにカッコの対応がわかる場合は、終わりカッコの識別番号は省略
10 する場合あり。

3. 貼り付けた配列の下に、解析した品種コードを書き込んだ。

品種コードの区切りには、” /” を使った。

例: nhb/ksh/kal/gla/pw1/kt1

15 《品種コード》 上述の各イネ品種のアルファベット 3 文字からなる略称にて記載した。例えば、日本晴は「nhb」、コシヒカリは「ksh」等。

4. 品種情報の下に、SNPs 情報を書き込んだ。

書き方は、「識別番号 品種コード: SNPs」

20 例: 1 ksh:g

《その他の例》

5. 欠失は” - “で表した。欠失している塩基の長さに関わらず、” - “は 1 つとした。

25 例: g[5agg]ggatcat ctgttacatt atag

5kal:-

- 49 -

6. 欠失が同じ場所にあるが、品種によってその長さが違う場合。

例: gtttg[20a:gtat[20b:t ccattatgia ttatticatt tgct20b]t20a]ttatg

20akal:-、20bgla:-

5 欠失の場所が同じなので、同じ識別番号を使った。ただし、品種による欠失の長さの違いを明確にするため、“20a:”、“20b:”のようにアルファベットで区別した。

7. 挿入の場合は、公開シーケンスに“-”を挿入する。“-”は1つとした。

10 例: tacaca[7-]gtca attttatica

7kal:aa

次いで、品種鑑別に有用な SNPs について、SNPs 検出用プライマーを設計し、AcycloPrime-FP キット (Perkin Elmer) を用いて一塩基ターミネータ反応を行い、
15 ジェノタイピング用サンプルを作成した。ジェノタイピングは ARVO (Perkin Elmer) で蛍光偏光度を測定して行った。

その結果、シーケンスで SNPs と判定した箇所について作成したマーカーは、それぞれ異なったパターンを示し、組み合わせによってさまざまに分類できることが示された (表 2～7)。作成した SNP マーカーについて、プライマー配列、

20 利用した SNP 部位等の情報を表 8 および 9 に示す。

[実施例 2] 精米、玄米および米飯からの DNA 抽出法の検討

精米、玄米および米飯からの DNA 抽出法を検討した。まず、2ml チューブ (エッペンドルフ) に精米、玄米および米飯を 1 粒、抽出バッファー (1M KCl、10mM
25 Tris-HCl、1mM EDTA、0.1N NaOH) 0.4ml、3mm 径のジルコニア製ボールを入れてふたをし、4℃で 30 分静置後、Retch 社製粉碎装置ミキサーミル MM300 を用いて、

- 50 -

300Hz×2分×2回粉碎し、ミルク状の液体を得た。これを10000rpm×10分遠心分離し、上澄み0.3mlを別のチューブに移した。これにイソプロパノール0.3mlを加えてよく混合し、再度10000rpm×10分遠心分離した。上清を捨て、沈殿に70%エタノール1mlを加え、10000rpm×3分遠心分離した。上清を捨て、沈殿を乾燥して30μlの滅菌水に溶解した（方法5）。

また別法として、方法5で別のチューブに0.3mlの上澄みを移した後にフェノール・クロロホルム（1:1）0.3mlを加えてよく混合後、10000rpm×10分遠心分離し、上清を別のチューブに移してからイソプロパノール沈殿に進む方法も行った（方法6）。

また別法として、方法5、6で最初に用いるバッファの組成を1M KCl、10mM Tris-HCl、1mM EDTAとする方法も行った（それぞれ方法3、方法4）。

また別法として、CTAB法による抽出も行った。具体的には、2mlチューブに精米一粒と0.2mlCTABバッファ（方法1）または0.2ml 0.1N NaOH（方法2）、3mm径ジルコニア製ボールを入れてふたをし、方法5と同じ条件で粉碎する。こ

れに0.7mlCTABバッファを加え56℃で20分熱処理する。640μlのフェノール・クロロホルム（1:1）を加えて混合し、10000rpm×10分遠心分離し、上清0.7mlを別のチューブに移した。1.3mlCTAB沈殿バッファを加え、

10000rpm×10分遠心分離し、沈殿にRNaseを含む0.5ml 1N NaClを加えて溶解後、1mlエタノールを加えて混合し、10000rpm×10分遠心分離した。沈殿を1ml

の70%エタノールで洗浄し、沈殿を乾燥して30μlの滅菌水に溶解した。

以上の方法により得られたDNAを鋳型として、プライマーPGC1001（配列U:5'- accgggtagggaaacaaaac -3' / 配列番号: 113、L:5'-

aataatacttcggcgcatcg -3' / 配列番号: 114）を用いてPCR反応を行った。

その結果を図30に示す。方法1、2で抽出した精米のDNAではPCR増幅が見

られなかったが、方法3～6においては良好に増幅していることが確認できた。

これにより、精米からのDNA抽出においてはフェノール・クロロホルム処理が必

- 51 -

要ないことがわかり、方法3または方法5が最も簡便な方法であることが示された。方法3と方法5の違いは、方法5では粉碎時に加えるバッファーがアルカリ性である。バッファーをアルカリ性にするにより、精米の組織が急速にもろくなり、十分な粉碎が行いやすくなる利点がある。以上の結果から、方法5が最も簡便で効率がよいと判断した。

玄米および米飯においては、方法1、2で抽出したDNAではPCR増幅が見られず、方法3～6において増幅が認められたが、方法6により抽出したDNAが最も良好に増幅するのが確認された。これにより、玄米および米飯からのDNA抽出においては、アルカリ性のバッファーを用い、フェノール・クロロホルム処理を行なう方法が最も有効であることが示された。

〔実施例3〕 精米の品種鑑別

「平成12年産・茨城県産「あきたこまち」100%」と表示されて市販されている精米を購入し、32粒をランダムに選び、方法5を用いて1粒ずつ別々にDNAを抽出した。あきたこまちを他の25品種と識別するのに必要十分な3マーカー(S0115、S0146、S0178)のプライマーを使用し、抽出したDNAを鋳型としてPCR反応を行った。また、PCR産物を鋳型としてアシクロプライム反応を行い、多型(SNP)を判定した。

その結果、27粒はあきたこまちと判定されたが、3粒はあきたこまち以外の品種であることがわかった。2粒については3つのマーカーのうち1つでデータが取れなかったため、判定できなかった。あきたこまち以外と判定された3粒については、そのパターンから「きらら397」「こしひかり」「夢つくし」「キヌヒカリ」のいずれかであると推定された。

以上の結果より、本発明が精米の品種鑑別に利用可能であることが実証された。

〔実施例4〕 精米の品種特定

- 52 -

[実施例3]において、あきたこまち以外と判定された3粒について、「きらら397」「こしひかり」「夢つくし」「キヌヒカリ」のいずれであるかを判定するため、これら3品種を判別するのに必要十分な2マーカー(S0015、S0045)のプライマーを使用し、抽出したDNAを鋳型としてPCR反応を行なった。またPCR産物を鋳型としてアシクロプライム反応を行い、多型(SNP)を判定した。

その結果、あきたこまち以外と判定された3粒は全て「こしひかり」と同じパターンを示した。このことから、[実施例3]で使用した精米には、あきたこまち以外に「こしひかり」が含まれている可能性が高いと推定された。

10 [実施例5] 精米のブレンド率調査

「きらら397 30%・つがるロマン 40%・ひとめぼれ 30%」と表示された精米について、3品種が表示通りにブレンドされているかを調査した。精米から32粒をランダムに選び、方法5を用いて1粒ずつ別々にDNAを抽出した。鑑別可能な26品種のうち、「きらら397」「つがるロマン」「ひとめぼれ」をそれぞれ識別するのに必要十分な7マーカー(S0115, S0135, S0161, S0252, S0310, S0336, S0375)のプライマーを使用し、抽出したDNAを鋳型としてPCR反応を行なった。また、PCR産物を鋳型としてアシクロプライム反応を行い、多型(SNP)を判定した。

その結果、7粒はきらら397、11粒はつがるロマン、5粒はひとめぼれと判定されたが、2粒は3品種のいずれでもないことがわかった。7粒については7つのマーカーのうちデータがとれなかったものが存在したため、判定できなかった。データが取れた25粒における3品種の配分から、調査した精米のブレンド率は、きらら397が28%、つがるロマンが44%、ひとめぼれが20%、それ以外の品種が4%であると推定された。

産業上の利用の可能性

- 53 -

本発明により、イネの品種鑑別方法が提供された。従来の栽培特性による鑑別では、熟練した育種家の目が必要なため、容易に鑑別することが困難であり、さらに、一粒一粒の米を鑑別することは不可能であったのに対し、本発明の方法は、イネのゲノム上の多型を調べるため、微量のイネ検体で正確な品種鑑別を行うことが可能である。また、本発明の方法は、近縁品種間における品種鑑別も正確に行うことができる。

- 5 4 -

請求の範囲

1. 以下の工程（a）および（b）を含む、イネ品種を鑑別する方法。

（a）イネゲノムにおける以下の（1）～（28）のいずれかに記載の塩基部位、

5 または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における部位の塩基種を判定する工程、

（1）配列番号：1に記載の塩基配列の593位

（2）配列番号：2に記載の塩基配列の304位

（3）配列番号：3に記載の塩基配列の450位

10 （4）配列番号：4に記載の塩基配列の377位

（5）配列番号：5に記載の塩基配列の163位

（6）配列番号：6に記載の塩基配列の624位

（7）配列番号：7に記載の塩基配列の534位

（8）配列番号：8に記載の塩基配列の358位

15 （9）配列番号：9に記載の塩基配列の475位

（10）配列番号：10に記載の塩基配列の323位

（11）配列番号：11に記載の塩基配列の612位

（12）配列番号：12に記載の塩基配列の765位

（13）配列番号：13に記載の塩基配列の571位

20 （14）配列番号：14に記載の塩基配列の660位

（15）配列番号：15に記載の塩基配列の223位

（16）配列番号：16に記載の塩基配列の247位

（17）配列番号：17に記載の塩基配列の163位

（18）配列番号：18に記載の塩基配列の421位

25 （19）配列番号：19に記載の塩基配列の178位

（20）配列番号：20に記載の塩基配列の141位

- 5 5 -

(2 1) 配列番号：2 1に記載の塩基配列の4 8 0位

(2 2) 配列番号：2 2に記載の塩基配列の4 8 1位

(2 3) 配列番号：2 3に記載の塩基配列の1 3 1位

(2 4) 配列番号：2 4に記載の塩基配列の5 1 0位

5 (2 5) 配列番号：2 5に記載の塩基配列の2 4 8位

(2 6) 配列番号：2 6に記載の塩基配列の9 2位

(2 7) 配列番号：2 7に記載の塩基配列の7 4 3位

(2 8) 配列番号：2 8に記載の塩基配列の5 5 2位

(b) 上記工程 (a) により判定された塩基種と品種を関連付ける工程

10 2. イネゲノムにおける以下の(1)～(28)のいずれかに記載の塩基変異を特徴とする多型マーカーを用いて塩基種の判定を行う、請求項1に記載の方法。

(1) 配列番号：1に記載の塩基配列の5 9 3位の塩基がT

(2) 配列番号：2に記載の塩基配列の3 0 4位の塩基がT

(3) 配列番号：3に記載の塩基配列の4 5 0位の塩基がA

15 (4) 配列番号：4に記載の塩基配列の3 7 7位の塩基がC

(5) 配列番号：5に記載の塩基配列の1 6 3位の塩基がC

(6) 配列番号：6に記載の塩基配列の6 2 4位の塩基がC

(7) 配列番号：7に記載の塩基配列の5 3 4位の塩基がC

(8) 配列番号：8に記載の塩基配列の3 5 8位の塩基がG

20 (9) 配列番号：9に記載の塩基配列の4 7 5位の塩基がG

(1 0) 配列番号：1 0に記載の塩基配列の3 2 3位の塩基がA

(1 1) 配列番号：1 1に記載の塩基配列の6 1 2位の塩基がA

(1 2) 配列番号：1 2に記載の塩基配列の7 6 5位の塩基がT

(1 3) 配列番号：1 3に記載の塩基配列の5 7 1位の塩基がT

25 (1 4) 配列番号：1 4に記載の塩基配列の6 6 0位の塩基がG

(1 5) 配列番号：1 5に記載の塩基配列の2 2 3位の塩基がA

- 56 -

(16) 配列番号：16に記載の塩基配列の247位の塩基がA

(17) 配列番号：17に記載の塩基配列の163位の塩基がA

(18) 配列番号：18に記載の塩基配列の421位の塩基がC

(19) 配列番号：19に記載の塩基配列の178位の塩基がG

5 (20) 配列番号：20に記載の塩基配列の141位の塩基がG

(21) 配列番号：21に記載の塩基配列の480位の塩基がC

(22) 配列番号：22に記載の塩基配列の481位の塩基がC

(23) 配列番号：23に記載の塩基配列の131位の塩基がC

(24) 配列番号：24に記載の塩基配列の510位の塩基がA

10 (25) 配列番号：25に記載の塩基配列の248位の塩基がT

(26) 配列番号：26に記載の塩基配列の92位の塩基がC

(27) 配列番号：27に記載の塩基配列の743位の塩基がG

(28) 配列番号：28に記載の塩基配列の552位の塩基がT

3. 以下の(a)～(c)の工程を含む、請求項1または2に記載の方法。

15 (a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) 増幅したDNAの塩基配列を決定する工程

20 4. 以下の(a)～(d)の工程を含む、請求項1または2に記載の方法。

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) 調製したDNAを制限酵素により切断する工程

(c) DNA断片をその大きさに応じて分離する工程

(d) 検出されたDNA断片の大きさを対照と比較する工程

25 5. 以下の(a)～(e)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

- 57 -

(b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) 増幅したDNAを制限酵素により切断する工程

5 (d) DNA断片をその大きさに応じて分離する工程

(e) 検出されたDNA断片の大きさを対照と比較する工程

6. 以下の(a)～(e)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

10 (b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) 増幅したDNAを一本鎖に解離させる工程

(d) 解離させた一本鎖DNAを非変性ゲル上で分離する工程

(e) 分離した一本鎖DNAのゲル上での移動度を対照と比較する工程

15 7. 以下の(a)～(f)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む近傍の塩基配列と相補的なオリゴヌクレオチドに、レポーター蛍光とクエンチャー蛍光の2つを標

20 識したプローブを2種類合成する工程

(c) 工程(a)で調製したDNAに、工程(b)で合成したプローブをハイブリダイズさせる工程

(d) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する

25 工程

(e) レポーター蛍光の発光を検出する工程

(f) 工程(e)で検出したレポーター蛍光の発光を対照と比較する工程

8. 以下の(a)～(h)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

5 (b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む3'側塩基配列と相補的な配列、および全く無関係な配列を合わせたプローブを合成する工程

(c) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位から5'末端側が相補的なプローブを合成する工程

10 (d) 工程(c)で合成したプローブと工程(a)で調製したDNAとハイブリダイズさせる工程

(e) 工程(d)でハイブリダイズしたDNAを一本鎖DNA切断酵素で切断し、工程(b)で合成したプローブの一部を遊離させる工程

15 (f) 工程(e)で遊離したプローブと、検出用プローブとをハイブリダイズさせる工程

(g) 工程(f)でハイブリダイズしたDNAを酵素的に切断し、その際に発生する蛍光の強度を測定する工程

(h) 工程(g)で測定した蛍光の強度を対照と比較する工程

9. 以下の(a)～(f)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

20 (a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) 増幅したDNAを一本鎖に解離させる工程

25 (d) 解離させた一本鎖DNAのうち、片鎖のみを分離する工程

(e) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部

位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の近傍より1塩基ずつ伸長反応を行い、その際に生成されるピロリン酸を酵素的に発光させ、発光の強度を測定する工程

(f) 工程(e)で測定した蛍光の強度を対照と比較する工程

5 10. 以下の(a)～(f)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する

10 工程

(c) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1塩基隣までの配列に相補的なプライマーを合成する工程

(d) 蛍光ラベルしたヌクレオチド存在下で、工程(b)で増幅したDNAを鋳
15 型とし、工程(c)で合成したプライマーを用いて一塩基伸長反応を行う工程

(e) 蛍光の偏光度を測定する工程

(f) 工程(e)で測定した蛍光の偏光度を対照と比較する工程

11. 以下の(a)～(f)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

20 (a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部
25 位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1塩基隣までの配列に相補的なプライマーを合成する工程

- 60 -

(d) 蛍光ラベルしたヌクレオチド存在下で、工程 (b) で増幅したDNAを鋳型とし、工程 (c) で合成したプライマーを用いて一塩基伸長反応を行う工程

(e) シーケンサーを利用して、工程 (d) で反応に使われた塩基種を判定する工程

5 (f) 工程 (e) で判定された塩基種を対照と比較する工程

12. 以下の (a) ~ (d) の工程を含む、請求項 1 または 2 に記載の判定方法。

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

10 (b) 請求項 1 に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) 工程 (b) で増幅したDNAを質量分析器にかけ、分子量を測定する工程

(d) 工程 (c) で測定した分子量を対照と比較する工程

15 13. 以下の (a) ~ (f) の工程を含む、請求項 1 または 2 に記載の判定方法。

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) 請求項 1 に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

20 (c) ヌクレオチドプローブが固定された基板を提供する工程

(d) 工程 (b) のDNAと工程 (c) の基板を接触させる工程

(e) 該DNAと該基板に固定されたヌクレオチドプローブとのハイブリダイズの強度を検出する工程

(f) 工程 (e) で検出された強度を対照と比較する工程

25 14. 以下の工程 (a) および (b) をさらに含む、請求項 1 ~ 13 のいずれかに記載の方法。

- 61 -

(a) アルカリ性の水性溶媒中でイネの種子を粉砕する工程、および

(b) 上記工程 (a) で粉砕した種子からイネゲノムDNAを抽出する工程

15. 種子が精米されている請求項14に記載の方法。

16. イネの品種を鑑別するためのプライマーであって、

5 (a) イネゲノムにおける請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNA領域を増幅するためのオリゴヌクレオチド、または

(b) イネゲノムにおける請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1

10 塩基隣までの配列に相補的な塩基配列を有するオリゴヌクレオチド。

17. 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNA領域とハイブリダイズし、少なくとも15ヌクレオチドの鎖長を有する、イネの品種を鑑別するためのオリゴヌクレオチド。

15 18. 請求項16または17に記載のオリゴヌクレオチドを含む、イネ品種鑑別用キット。

19. さらに、アルカリ性の水性溶媒を含む、請求項18に記載のイネ品種鑑別用キット。

図 1

配列番号 1 S0015

1 tattcttcac gtgattcagc gaagataaca ctcttttaaac act[p:gcaattg ccactggaag
 61 aat]tagcacg aatttgagat gttttttcac cggaagataa gttcataact aagggtgttc
 121 ttcgtttcaa caaacaagat ataaagttca accagatttt acatttttga aaacctttta
 181 tctttacata tatcagtggg ggagttgaaa tgggagatac atcaactcta aattagagaa
 241 attttttagga tacaactaaa caagttaaac caaatttccc ttgtcctaaa cagcaaatga
 301 ttcagtga[10c]a cattgggttg atttagcgac ttcaaacctt ttgtcttctt tttcattttt
 361 caaatttcta gctctacaac taattcaatg actactcagt ttaaaacaaa acaaatggaa
 421 gattgggttg gagattt[17a]ag aagaaaactg ccaggtgggt gcttgggtccg tggaggaaag
 481 agggctcagg ggctaaccac ctgcgaactt agggctctgg cctccgtctc ccgccttttc
 541 gccgagagcc cgcaaggtga cagagtgcgg cgaggtcgac acttcggccg tt[29c]ggggtcg
 601 ccgcgtcggg cgtccgggcg gcgtcgtggg tcgggggact gagggcagct actcagctag
 661 accgctggag cccaaaggaa tctaaggtta catgctgtct tgttgagcct attttatggg
 721 cctgcgactt tgcagttagc cgaggcatat tggaataaat ttaatttagg tctctcaatt
 781 tgctcgcgag cctgaaattc atactggac cgcaaaacta gat[q:acatgc attccccaac
 841 tta]gttaagg tagcagtggg ggtgggcagc cagcgaggag ggccgtgggt gtccgtgatg

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

10ksh:t、10krr:t、10tgr:t、10mnk:t、10yma:t、10tkh:t、10akk:t、10mtb:t、
 10hit:t、10mmm:t、10fom:t、10don:t、10ssk:t、17ksh:g、17krr:g、17tgr:g、
 17mnk:g、17yma:g、17tkh:g、17akk:g、17mtb:g、17hit:g、17mmm:g、17fom:g、
 17don:g、17ssk:g、29ksh:t、29krr:t、29tgr:t、29mnk:t、29yma:t、29tkh:t、
 29akk:t、29mtb:t、29hit:t、29mmm:t、29fom:t、29don:t、29ssk:t

2 / 3 0

図 2

配列番号 2 S0040

1 tttaacttta ttgtagtat tagtactagc tctggttgct tatcac[p:tctg ctgcctctgc
 61 acatac]tgat ctagaacaca catgttctct acttctctgc agtcactgct actgacatgt
 121 gggccctact ctctttgggc cagcatgtca gtgtcagcag aggatctcat tctacagtc
 181 aatccatgtg tgctactccg ttaaaaaaac gaattccaag ctacaaacct aaacacgttt
 241 ttttgacgg aggggtatat ataaacaaag aaaaagcact gtaggtacat aatatagtac
 301 tag[7a]tcagtc ttattacagc tgttcaaaaa cagttcagta tatagtgaat ctagttggtc
 361 tgttgctact gcagttaatt ggctctgggt gcttttggtg atctgttgct actgcagtta
 421 attagctccg gttgcttagt tgatcaagtt aattagctct ggctgtgccc taatcaa-aat
 481 tcatatatag tagcttcaag cagcacatac cacctttcct accttctggt ggatactcct
 541 ctcttttata atttctgcag taagcttgaa acataagtag aactgccat taattaaaca
 601 agcacagtga attaaccag atatgtgtaa tctgcatact aattaaatta ggttcgtgcc
 661 agttcaaggc agccacaacc acatacaggc gatccatata ttgatttata tatctgatcc
 721 gtttggtgag gttggtgcat caatcccccc tgaagcagct atgtcgagcc taattgcgat
 781 ttgattaatc aatttttctc atccaacgat ttaattatgc gtgattttaa tgattcgatc
 841 ggtacagttt tttttctctt tcttcagtgc tagtgcttct actagtattc gtgacaataa
 901 cctgtcggat ttggaatata tgat[q:tgtga tgtggtgtcg ttttt]attaa caagcccttg

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

7yki:t、7krr:t、7tgr:t、7ghm:t、7mnk:t、7yma:t、7hez:t、7ksh:t、7akk:t、
 7hnh:t、7hit:t、7mmm:t、7fom:t、7ssk:t

図 3

配列番号 3 S0279

1 tagcattagg ataaaa[p:gggg cgctccttca aaactt]taaa atatcaaaga acaccctttt
 61 gagattgaat tgcttcttct ggtctttgcc tcttctttcg cttttcagca ccagaatcgt
 121 acttcctatt tctagctgac ataatgagga ttgaggaaat aagtgtcttc ctatttcata
 181 aacaaaagaa aagtaatttg [1a]gtcaaacag tcacatcaact atttaagttt tgattcaatc
 241 gatagtttga ttcataattac atctactatt tgatacgaga ctcaatgtct caactcttaa
 301 gtctaaaagt aactttccaa tgctgcacaa aggtagtagt cagggacacg aagat[3a]agtg
 361 gatgagaggc actgacaaag gtagccggcc aaccgcttgg cattgatggc gcttgcccgt
 421 tggtcgctcg ctgcctcgtg ttgggctgg[5g] gtcgggactt tgcaggcatc gtcatttcat
 481 cgtcgaattt gaaatcgaga ttgactccag tca[7c][8a]cgaca tgactacaca
 acagtgtgac
 541 ttgatctcgt t[9c]gcctctca gcctccaatg cacctgatgg cagatgggcc tctctaateg
 601 attcacaggt agaagcagga ttgtggctcg gctatgcatt aatgtgcgcc tctccgatta
 661 acttgggtgc cccaaaaaaa ttgggggaca ctct[11a]tcatc gccaatgtcg cacacaacct
 721 tcgacaggct tgcccattag tgtgacactc ctgccacat cactgtcca ttgtcatcca
 781 tcacctgtgc ga[q:ccattgtg gtgtgccaaa cc]gcggtgt cgtctgtttg tgattttgta

nhb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1ksh:t, 1hts:t, 1mth:t, 1yki:t, 1krr:t, 1tgr:t, 1ghm:t, 1mnk:t, 1yma:t,
 1hez:t, 1akk:t, 1ash:t, 1ank:t, 1mtb:t, 1hnh:t, 1ymt:t, 1hit:t, 1mmm:t,
 1fom:t, 1don:t, 1knh:t, 1ssk:t, 3ksh:g, 3hts:g, 3mth:g, 3yki:g, 3krr:g,
 3tgr:g, 3ghm:g, 3mnk:g, 3yma:g, 3hez:g, 3akk:g, 3ash:g, 3ank:g, 3mtb:g,
 3hnh:g, 3ymt:g, 3hit:g, 3mmm:g, 3fom:g, 3don:g, 3knh:g, 3ssk:g, 5ksh:a,
 5hts:a, 5mth:a, 5yki:a, 5krr:a, 5tgr:a, 5ghm:a, 5mnk:a, 5yma:a, 5hez:a,
 5akk:a, 5ash:a, 5ank:a, 5mtb:a, 5hnh:a, 5ymt:a, 5hit:a, 5mmm:a, 5fom:a,
 5don:a, 5knh:a, 5ssk:a, 7ksh:t, 7hts:t, 7mth:t, 7yki:t, 7krr:t, 7tgr:t,
 7ghm:t, 7mnk:t, 7yma:t, 7hez:t, 7akk:t, 7ash:t, 7ank:t, 7mtb:t, 7hnh:t,
 7ymt:t, 7hit:t, 7mmm:t, 7fom:t, 7don:t, 7knh:t, 7ssk:t, 8ksh:g, 8hts:g,
 8mth:g, 8yki:g, 8krr:g, 8tgr:g, 8ghm:g, 8mnk:g, 8yma:g, 8hez:g, 8akk:g,
 8ash:g, 8ank:g, 8mtb:g, 8hnh:g, 8ymt:g, 8hit:g, 8mmm:g, 8fom:g, 8don:g,
 8knh:g, 8ssk:g, 9ksh:t, 9hts:t, 9mth:t, 9yki:t, 9krr:t, 9tgr:t, 9ghm:t,
 9mnk:t, 9yma:t, 9hez:t, 9akk:t, 9ash:t, 9ank:t, 9mtb:t, 9hnh:t, 9ymt:t,
 9hit:t, 9mmm:t, 9fom:t, 9don:t, 9knh:t, 9ssk:t, 11ksh:g, 11hts:g, 11mth:g,
 11yki:g, 11krr:g, 11tgr:g, 11ghm:g, 11mnk:g, 11yma:g, 11hez:g, 11akk:g,
 11ash:g, 11ank:g, 11mtb:g, 11hnh:g, 11ymt:g, 11hit:g, 11mmm:g, 11fom:g,
 11don:g, 11knh:g, 11ssk:g

4 / 30

図 4

配列番号 4 S0044

1 tccaaaatcc aca[p:tgcaatg tgccattcca tag]gaatttc atgggatttg aaaatcgtca
61 atcctttgaa tcaaatggcc aaataggaaa atttcgtata ggatttgaat cctatgaaaa
121 tcctatataa atcctttgat tcaaagggcc ctaagtttcg tacgtgtgca actgtgcatc
181 cagcacgtac tactacgtac tcctatgtac ttgtagtggg gtagcctata catatgcatg
241 aagcgttcca ggaaaaatag gagtctcagt aatttgtgca ggcatgcggc ccatggagta
301 atagaccatg ctgaataatt tcagttcaaa tttcatactc caactgtaat accatacgca
361 aaccatcaac ttacaa[4t]act gatatacttg acatttcaaa ataacatagc ctttggtttt
421 agctgacgta gcgactgagt aagctagcac gaggtcata tgggtccac atgtcagcgg
481 cccaatcttc ttccacatct ctctctctt cccaatccta atctctctcc atgcctctag
541 ggtggtgggg gtgggaagaa gctcgacagc ggtggccaac acatacgcaa ggagaagctc
601 gaggactgca agacgacttt cttttcgctt accactggaa ggcaacacct tgtttccctg
661 ctttctagtt gagcgaggac actgaatgca tggaggtggt gtgacccaaa tctacggcag
721 aatccctcgc cggaagtctg ccggagatct agcagagaag aggcgagaag aacagggtag
781 aaaggggaaa cacgaggaag cagctgggga ggaggatatt tttcatttct ttcatgaatt
841 gttttctcaa tacagctgga gtatatatac tcacgcactc caccctctt gcc[q:ttaggg
901 ccaccttgt cata]gacact tctatctata aagagtagaa gatgtattca cttctgaaaa

.nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mm/fom/don/knh/ssk

4ksh:c、4ymt:c、4don:c、4knh:c

5 / 30

図 5

配列番号 5 S0252

1 tgctgcatgt ttcagtccaa gctagg[p:cgcc acagaacgga caaaag]taag aaaatcgcta
61 cgtacaactc acgtctgacc agcacttagc tgctaattgc cctagccaca tggagagaag
121 ttggtctgcg tgaagcgtaa cgattggcag ataaagttag at[2t]ggatggg aatcggaaga
181 gggagtcgaa cgtatagcaa cactccagaa gtaaagcagt aaaccgaaaa agttttgcta
241 tcaattgtat gaccgtctcc acaagtggcg actggcacga catggccact cgacagaacc
301 gcacaacaaa tgctgaccc tggccctat tccatgcgaa gttgcgactt gcgagtcttt
361 gggcagggca tgcactactg acaagatgaa agaagaaaat caaccgtaat tcgggcgtgc
421 actgctgcag aatagtcctt gtgatcatgt ccatgtgacc atgttcgtta cgttctgagg
481 cgtcgatagc gagcgatgct ggtaatcgtg accaatctcg ttcacgtcca cctgttgac
541 gcgcacgtac gtcgctatat atgacaacgt cctgctacat atagccttgc tcactttcgg
601 actttgacgt atgtgaagag agcacgacta ggagccacta atcatatggg ttggtacatg
661 agaggatatg catgtttcac ttgacacca acatgtactg tactcatcta gtcacctac
721 tagtattttc catcgggtgc cttttctcct gtgatctctc gctttgcaca caaacctcgc
781 aacaaaacgg tctcgtgctc gcctttcagc [q:gcttcggcaa aggattgggc] gggtcatgag

nbb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mm/fom/don/knh/ssk

2hts:c、2mth:c、2yki:c、2krr:c、2yma:c、2hez:c、2ank:c、2mm:c、2fom:c、
2don:c

図 6

配列番号 6 S0109

1 aattattatt attattatth ccaatcagcc atatatatgg cttgccaa[p:cc gatggcagca
 61 caaatctt]tc gcgtccgttt gaaccattc ttcaaacttg aagttggatt tggacgtaat
 121 agaaggtgca gttgttcaact tgttcctggc atcaacgtgt acggttgaac aaatcggtgg
 181 atctcttatg gttaacgtgc cctgttgatg tctgaaaacc catctgttct ttgttctaac
 241 tcctatctta tcctctcatt ttttttcgct tggctcacaac ttcgtgttct actagttttg
 301 aacgagtcac tcaactcggac tcgagagctc tgaacttctg aacaagccaa aatgctgtct
 361 gaaccgagat cttcttggcg ctgtcagcct gtcacaaact cgcaatccaa ttgcacttcc
 421 agcgggttgag caggttcaat tcaacatgac tttcatcagg agatggtaag ttaggaacag
 481 attactgtca caactcaca cagttattac tact[la]tcgca acaaagtcta gctgtcctta
 541 tcctcatcga ctggatactt cagaacaag cataacagta gcattggagc aaaggacaca
 601 gcatggctag aagtagatgc tgc[2tgc]ctag agatatcatc tcgaattcat ggcatgaaca
 661 aacgtcggtc atgcagccat gcaggaataa taagctcaga acaggattca ggacaaattc
 721 aagctatcta caagcttgcc agcatcatca tattataata attgctttaa tagtcagcaa
 781 actcgtacag aatagccaga tccaaatttc cacaaactat atatcatcat caggaattht
 841 aaaagagaa ctcggaatcg atttcgcatg atattcga[q:gg acaccaagc caaactga]cg

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1mth:g、1krr:g、1tgr:g、1ghm:g、1mnk:g、1yma:g、1ksh:g、1akk:g、1ank:g、
 1hnh:g、1ymt:g、1hit:g、1mmm:g、1fom:g、1don:g、1knh:g、2mth:-、2krr:-、
 2tgr:-、2ghm:-、2mnk:-、2yma:-、2ksh:-、2akk:-、2ank:-、2hnh:-、2ymt:-、
 2hit:-、2mmm:-、2fom:-、2don:-、2knh:-

7 / 30

図 7

配列番号 7 S0115

1 taaccacttg cttcagttgc tgcattgctta gtacatcagt actgtcatg[p:c cattgggttg
 61 tgtggctgt]g agtgaacatt gtgcagcaga gaagcaagca acaatagcat tggaccccc
 121 agaaccagta cattatctct atctgtgaca gagaacacaa gaatgcaaat gctgataaag
 181 aatcaagaaa gcattgtgca agcagcaagg tgagtagaga gtgatggaag cagagagaag
 241 ctgcag[1a]cta gtgatgaaaa tgattggtga gtacagtga acaactaaca acaagtctct
 301 atgaagaagc aggtactaag catgcatgtg tgtgtgtgtg t[2-]gatggcatg tggtatcaat
 361 gcttctgggg ttgttcactt gtccaccaga gcaaccagga caagtcttct cactctacca
 421 ttccggtgtc attttctctc tcaaccctc ctctgttggtc tttagcaagc ctgcagctta
 481 aactagatta tgttttcttt cctcaataaa gattaatagt attgttaatc atg[3a]catctt
 541 tccctcacct gtttctctct caagagagag gaggaggtgc acaggcacag acagctcaca
 601 caaacattgt gttgttcatt tctctttctt gctaccttt gttgaactgg tttgccttgg
 661 gagacacaca ggacactcga ggctgcctgg ctggcctctt tgtcaggag aaacctgcta
 721 atctgtctata atagtgttg ttataattct atgattctat ccatcacaaa ggacacagta
 781 tagctgcate ctttaactgc agcttgcagg cttttttcat cgtttacttg t[q:tagcttate
 841 agccgcgacc a]aaattttta gtactaaaac tcaatattag agttgatgtt agggtttttt

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1hts:c、1mth:c、1yki:c、1krr:c、1mnk:c、1hez:c、1ksh:c、1akk:c、1ank:c、
 1hnh:c、1ymt:c、1hit:c、1mmm:c、1fom:c、1knh:c、2hts:gt、2mth:gt、2yki:gt、
 2krr:gt、2mnk:gt、2hez:gt、2ksh:gt、2akk:gt、2ank:gt、2hnh:gt、2ymt:gt、
 2hit:gt、2mmm:gt、2fom:gt、2knh:gt、3hts:c、3mth:c、3yki:c、3krr:c、3mnk:c、
 3hez:c、3ksh:c、3akk:c、3ank:c、3hnh:c、3ymt:c、3hit:c、3mmm:c、3fom:c、
 3knh:c

図 8

配列番号 8 S0107

1 tgtatagtgt caaatttact cataggttgt ttgtttt[p:tgc gatggaggga gtattgg]ttt
 61 gactggatgg gtcattgaaa actggaaaag caacagcggg atgcatggca aaagagggac
 121 aaaagaacaa gacgaaacat aggtaggatt gcaggatgct caagtgagaa cttgtagttg
 181 tagatgaagt gaagtgacaa gccgaagtcc cgtgaacgaa gcaacaaaaa attgtgggag
 241 ttttcc[1a]ttt gttgtatg[2t]g tattatttgc gatttgaaat ccaggctgtg
 tttagttcct
 301 tccaaa[3g]tta gaagtttggg ttgaaattga taccatgtga ctgaaaagtt
 gtgtgtgt[4-]at
 361 gacaggttga tgtgatggaa aaagtttgaa gtttg[5a]attc aaagtttgga tctaaacaca
 421 gcccgaatgt ttaaagagaa ctt[8t]aacgat taaatttggc cagaccggg aagccgataa
 481 acaaaagatg agaataaagt actgtatata caacttccag cctcatcttt tcaattatgc
 541 ttatgtttat caactaaaat ttaaattttc aaccttaaatt ttagagttga ttttaggggt
 601 ttttttatcg aagtttattt ttttagccttt acttttagat cgtaggaaca cgtatatgaa
 661 aaaattattt ttcatttgca attataccgt ttgtcttatt ccctatataa gcgaaacgag
 721 ggaccttccc tgtcttgctt gtgatcatca gtcattctcat ct[13a]tccgctg gatgtgaagt
 781 tacgacagaa atgatccatc gttcaacttg aattacactt gtact[q:actag cgggtgtacg
 841 tcgca]tgtca gcgtaacgaa acgatgacat cgccatcaca gtaggagtat tggactaat

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1mth:t, 1yki:t, 1krr:t, 1tgr:t, 1ghm:t, 1mnk:t, 1yma:t, 1hez:t, 1ksh:t,
 1tkh:t, 1akk:t, 1ash:t, 1ank:t, 1mtb:t, 1hnh:t, 1ymt:t, 1hit:t, 1mmm:t,
 1fom:t, 1don:t, 1knh:t, 1ssk:t, 2mth:c, 2yki:c, 2krr:c, 2tgr:c, 2ghm:c,
 2mnk:c, 2yma:c, 2hez:c, 2ksh:c, 2tkh:c, 2akk:c, 2ash:c, 2ank:c, 2mtb:c,
 2hnh:c, 2ymt:c, 2hit:c, 2mmm:c, 2fom:c, 2don:c, 2knh:c, 2ssk:c, 3mth:a,
 3yki:a, 3krr:a, 3tgr:a, 3ghm:a, 3mnk:a, 3yma:a, 3hez:a, 3ksh:a, 3tkh:a,
 3akk:a, 3ash:a, 3ank:a, 3mtb:a, 3hnh:a, 3ymt:a, 3hit:a, 3mmm:a, 3fom:a,
 3don:a, 3knh:a, 3ssk:a, 4mth:gt, 4yki:gt, 4krr:gt, 4tgr:gt, 4ghm:gt, 4mnk:gt,
 4yma:gt, 4hez:gt, 4ksh:gt, 4tkh:gt, 4akk:gt, 4ash:gt, 4ank:gt, 4mtb:gt,
 4hnh:gt, 4ymt:gt, 4hit:gt, 4mmm:gt, 4fom:gt, 4don:gt, 4knh:gt, 4ssk:gt,
 5mth:g, 5yki:g, 5krr:g, 5tgr:g, 5ghm:g, 5mnk:g, 5yma:g, 5hez:g, 5ksh:g,
 5tkh:g, 5akk:g, 5ash:g, 5ank:g, 5mtb:g, 5hnh:g, 5ymt:g, 5hit:g, 5mmm:g,
 5fom:g, 5don:g, 5knh:g, 5ssk:g, 8mth:c, 8yki:c, 8krr:c, 8tgr:c, 8ghm:c,
 8mnk:c, 8yma:c, 8hez:c, 8ksh:c, 8tkh:c, 8akk:c, 8ash:c, 8ank:c, 8mtb:c,
 8hnh:c, 8ymt:c, 8hit:c, 8mmm:c, 8fom:c, 8don:c, 8knh:c, 8ssk:c

図 9

配列番号 9 S0126

1 attacaaaaa ttatatgaac atgcttaaac aatttacaag aataattctg gttgatg[p:gct
61 tgaggcacgt caaaatg]ttt cataaagtgt gaagtgagtg taactcaact ggttatgttt
121 ttttatggaa tcagtctacc taagttgaag tcctagactt acgccgatgc ttgtatttat
181 tgttaatttt tttttcgtgc tagacgccta tcatgacttc gttaatctca agatatgctc
241 gcacagtctt tcggaggtgc tcatatgagt aagatgtgcg tgtgtacgtt catatgagtg
301 agtatacgtg tgctacgaga gtctgcgtat acagtgtgct tctacaaaaa aatgtttcag
361 agtaaatttc acaaaaactgc aggtactttg atcaaattat tataaaaacta cagatttaat
421 gtgatgtatt acaaaaactac atatttaacc atgaaattat tacagaacta caga[19t]ttaag
481 attaagtatc acaaaaactac aaatttaata ataaaattat cacaaagata taggttttgg
541 ggtttaaatt cttagcacta atatgttatg attgagttat aaatatctaa gttttgtaat
601 taaattgatg ctaaacatat agttccacga taattttggt actaaatctg tagttttata
661 atattctacc ttaaattctat aattttatga gaaattcagt gttaaatctg tagttttgta
721 atatattatc ttaaatatat agttttgtga aatttaatca atgtttcaca ggagacgtgg
781 catatatgta tactccacag agcgtgtaat taaacgtaat taaaatat[q:ga ccaacatgaa
841 cgacggaa]ga ctacgtgtga accagccagc taattggccc tggaatccgt gatgaccaag

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

19yki:g、19yma:g、19ssk:g

10 / 30

図 10

配列番号 10 S0124

1 aaaagt[p:cca cggaacagc caaaag]ttaa ttaaacctta ccattgaatg cagcattggt
61 gaccttgctg cccttgaaag cttagttagt tcattggtat caaaaggaga aatttcaccc
121 aacacggtgc actcttggtt cccttcaaag ttgctcata gcaacctttc aaatgctatt
181 ttttacagtt tagttacagt aatgctaa[lg]t actccccca ttccaaaata tagggcacia
241 cgattttttc ccctaagtgt gcataatacg aggttcgcat gcatgcgtgc atgctattga
301 ctagcacctc cccctcctct aa[2g]ttctatt tttaaagcct ctaccctcaa gatctctgat
361 ctctaattcc attgggtgca tgcattttat ttattgggat gatccaaatt agaagggtgat
421 aataattttt tcttggtttt tgcgtaagag atagttgctc attatatattt ggaatgtagg
481 ggagtactca tttattctag cacaccaatc tcctgtgcac caaaagtgat tctgcacata
541 gattgagaat gcaaggtagt actaactgc aattaagtga gtgcattaat tgctgaatat
601 gcataaatta agaacttaag atgcatgcaa agaattattgc tcccagtttc tccactttct
661 gatgtgaact tcccttatct agatcctaca gtgggaactt tttctgttc atcttgaagt
721 atcttttggt agctgctcat caaaataatt tatattg[6c]ct ataacataac ttataccatt
781 ttgtgaatg ttatttatct aacttcagt acacctatta tcttttggtg gggaagttca
841 cacttggtta atcccattgt cttttgcaga taacagccct gtgggattat ttttgctttc
901 acatcaatgg tgtgaaacca gtgcaaagcc gtggagcttt at[q:cgattctt tgcattggcag
961 ca]aagtcac tcccagcatt ttgggtactc atttgaaga tattattgat attgggtttg

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mm/fom/don/knh/ssk

1krr:t, 2krr:a, 6krr:t

11 / 30

図 11

配列番号 11 S0146

1 cttaatccct taatcttcat gtttagaag[p:a ttcgaacggg ggatccagt]c ttcaacttgg
61 cagcacacag tetcaatctg cctctccatt aatagccaaa caagctgtgt ggcttttctc
121 ttgcaacttg cagctgtgct gatgttgctg cattctgggtg aactaggcta aaaggcattt
181 tgtgggtcagg ccctgttttag ttttacgggtg aaaagttttg gcgtgtcaca tcggatatac
241 ggacacacat ttaaataatta aatatagtct aataacaaaa taaattacat attccgtctg
301 taaattgcga gacgaattta ttaagcctaa ttaatacttt tatcaaatca tggcgcaatt
361 aggcttaaaa gattcgtctt acaatttaca cgcaatctgt gtaattagtt tttttattta
421 tatttaatac taaatacatg tgtccaaata ttcgatgtga catgatgaaa agtttttgcg
481 tgaaaactaa acaggacctc atccacattg ccatggatac atatcattca tgccatggct
541 agctacctct tgataatagt agaattgtca cgccccgaac tagtcccgcac cggaactagc
601 ccgtgacgct c[5ca]atttaac ctgttaatcg ataccagtcc caggaaatag tgctgggtatg
661 acagggagac agaatatcac agcaacagag gtctctttat tatagagtag aggtacagtc
721 atgttgggct gcggacagat cccgagctca caactgcatt acagaaggga aacggaagcc
781 aggacttgga ccaaacaaca caggcgcgac ttgggaacta ggccgaaacc ctaaaactca
841 tcatagccgg cttgctcctg gaagaact[q:cc tcatcagcag gatccgct]tc atcttcttca

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

5krr:ag、5tgr:ag、5yma:ag、5ksh:ag、5tkh:ag、5akk:ag、5ash:ag、5mtb:ag、
5ymt:ag、5don:ag、5knh:ag

1 2 / 3 0

図 1 2

配列番号 12 S0135

1 acggaaaatg atgtaatctt ggaccactct ctgtgacctg tggtatgact tatgact[p:gtg
61 ctgcaaaggg gagtatg]aat tattgttctc aaaactagag atcactcatg ctccaggaag
121 ccttgaattt gtcttgattt atactgaaag taacctggat tcataaaatt cttgtgttcg
181 aagcgaatgg ttgaggaata ttatcgtttc attgagagag agatttcate tcagctagaa
241 aagttaatac ataaaaaaat gttgctagat acctcattga agacagttaa acaccaatgg
301 aaaaaaaatg ttgcaacata tacctcattt ttttcaaca ttgcagtatt aaaagaaatc
361 ttttatatat gtccttttta aaaaagcate aagatgtaca agtttttagg ggtttaactt
421 ggtcaggaag aggatgtgca tcattgtcag gaagacaacg gtgtgaaacc tgtcatgaat
481 ggtagcctcc cgagacttga gctagaggac ctagtaacac cgaggcatca actagccagg
541 gatgcaagta ggcaatcaat cgaccatctc tatgagagca cgcgtgctaa tttagtttaa
601 cgagtttcag atactaccta tgtcctaaaa taagttaatt tttcatccat cacacatata
661 ccaatacaaaa catcaaaaga ttagaatacc agtcactaga tgaatagaag tcgggggtact
721 caaaatcggt catatgcttg acaagagagt cgagatgac caaa[8g]taaaa caaatacaag
781 attattcgat tcagattgaa aacattgggt aaaagatagt tcaaagcaaa acatcggtaa
841 taaaagatga tttaaagtga aatttgcctc ttattatgat aatagctcg[q:t ttgatttacg
901 aggttggcg]a ctaattaagg cttatttagt tcccaaaata aaaaatttca cgcagtcata

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

8ghm:t、8ksh:t、8ymt:t、8hit:t、8mmm:t、8fom:t、8don:t、8knh:t

1 3 / 3 0

図 1 3

配列番号 13 S0155

1 gaagcatctt aattccagac aagtcaaatt tcatagcaag ggacgatgtt atgattatth
61 attgaattgt acagtactat tcaacctgac aaacattgtg caatcacatg gaaatggagc
121 gttcatthtat caaatttgca cgaattcggc gatctcaacc tcaagaggag caactaccgt
181 attcatcctc aatgttaatt tctccccgaa catattatcc tactaccgta ttcacctca
241 atgttaatth ctccccgaac atattatcct ttcgtgcttg atctaathth aggcatagct
301 caaaattagt gcaactaatc tacaaactgt gaatggacaa aaatatacag cttcagcttc
361 tcaaaaccac ttccccatt cgaacctgaa caaaacccaa ctctgatggc acagtaaata
421 actaactagg gcaagaacca tcgcgcgaca cgggcgcggg ctagatcgat cgatcggtcg
481 atcaagcccc tcccccaaga gggaaacacg accagcgaca gcgatccatc caacgccgtc
541 gcatcattca cagctatagc ctagcttgga [2g]gaatcaaac catggathth ggccttgacg
601 ttgtcgatgt gtcgtgctc tccacctga gaaacntggc cccgtcaggt cttaaatac
661 ggtgtctt

nbb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

2mth:t、2krr:t、2tgr:t、2ghm:t、2mnk:t、2yma:t、2tkh:t、2akk:t、2mtb:t、
2hnh:t、2don:t

1 4 / 3 0

図 1 4

配列番号 14 S0161

1 ttataccaca ggtgctgaca ttaatatgct tttacttcag tttgtgtttt gttctctgtt
61 taatcctgca tatgcctggt aaatttatta caaagactat attaaactag ttttacctgg
121 cgaaaatatt aaactagctt tgatagttct tgttgcaaca acagaaccgt atttgtttta
181 tttcaaatat tatgttccat tagcggaaag agcttggttg tttgttacc tctttttttt
241 ggcaaatgaa gaatgctata tacaagctag attgcaatcg tatatcagga aattgactga
301 tcatgtatgt cgacatgtcg tcttttatgg gagatgaagt ttaacttcc cccataactc
361 tgttttaggt aaatgtagtt ttgcagaaat tttctgccta aatctatttt gtactttgtt
421 gatctaacaat tccttacact tagtttctcc atttattgat tgattatttt tctctgtttg
481 ttgaggcctt agcatgtttt gcttcctcct tttgctggca ggtgctgcgt gaggttacca
541 gtgatactat tggagcttgt atatgatgtg tcctttggga ccattcttct gcatagctgt
601 gcagaagctg ctactagttt gttggagAAC ctggttgaag acagcttctg cttgtttgt[1a]
661 taataagatc agcttctagt tagtattact tataagttgc tgcagaattt tgcgttttg
721 cagcaccgca gaatttttta ctgtgtagaa gctgtagaac atctatatat cacttttcaa
781 tttgaagaat tgtaaagaga ggcaatggcc gcattctaag caggtgctct at[q:ggaaaatc
841 cctagttgcg ca]tgatcatat agttagccat actagtatat agtagtatgt tggtataaaa

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

lhts:g、lmth:g、ltgr:g、lyma:g、lakk:g、lank:g

15 / 30

図 15

配列番号 15 S0177

1 [p:ccttggtgac acattgcgg] cggttgagag ggcgccccgc ccagaagaaa ccaggccggg
61 cttggccccgc cgcgggtcag catcctcacc gacgactcac ctgcacttct acttccacga
121 caaggtgagc aagccatcac cgacggcagt gcgggtggtg gaccgggtgg acccgatc
181 gcggtccttc ttgggatga tcaacgtcat ggacgatccg ct[2g]acggagg ggcccgagcc
241 cgagtccaag cccatgggccc ggccccaggg gctgtacatg ggctcagacc aggccaagct
301 gggcttcctc caggcaatga acctggtgtt caccgacggc acctacaacg gcagcgtggt
361 caccgtgctc ggccgcaact gcccttcga cgacgtccgg gagatgccgg tgatcggcgg
421 caccggcgcc ttccgcttcg cccgcggcta cgcccaggcc aggacgca[q:ca ccctggacct
481 caagaccg]ga

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

2ksh:a、2hts:a、2mth:a、2yki:a、2krr:a、2tgr:a、2ghm:a、2mnk:a、2yma:a、
2hez:a、2tkh:a、2akk:a、2ash:a、2ank:a、2mtb:a、2hnh:a、2ymt:a、2hit:a、
2mmm:a、2fom:a、2don:a、2knh:a、2ssk:a

16 / 30

図 16

配列番号 16 S0178

1 [p:tgcatccttt gcatgttgag c]tttaagatg tagtgggctt taactttata
gaaa[1t]ata[2g]g

61 attaatcct atagaatgtc atgatgcagg atgtcattaa taatcctcca agctgttccc
121 ttttaacttt ttt[3-]ccctgtt acttgaaact tgactaagga tt[4-]ctcttcgt
attaatgttg

181 attgtgtcac tgaccatatg gttgtatctt tctttcagcg cttcgctggg acttggaatg
241 tttgtt[5g]ttt ttcagtgcctt tcatggccat ggaactcaga atgtctccaa cgtgcaaatt
301 cttggttgtg atctagaa[6g]a tggttatttg tttgaaacaa tggaagcaact tgatgttccc
361 ttagcatata cacttgtgag cttgtgttga tagaattgta aagcttacat atgttttagt
421 tctactatta ttttgaagag [q:ggaaatgtgc agctggatgc]

nbb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1krr:g, 1ghm:g, 1ksh:g, 1tkh:g, 1ymt:g, 1hit:g, 1mmm:g, 1fom:g, 1don:g,
1knh:g, 2krr:a, 2ghm:a, 2ksh:a, 2tkh:a, 2ymt:a, 2hit:a, 2mmm:a, 2fom:a,
2don:a, 2knh:a, 3krr:t, 3ghm:t, 3ksh:t, 3tkh:t, 3ymt:t, 3hit:t, 3mmm:t,
3fom:t, 3don:t, 3knh:t, 4krr:gt, 4ghm:gt, 4ksh:gt, 4tkh:gt, 4ymt:gt, 4hit:gt,
4mmm:gt, 4fom:gt, 4don:gt, 4knh:gt, 5krr:a, 5ghm:a, 5ksh:a, 5tkh:a, 5ymt:a,
5hit:a, 5mmm:a, 5fom:a, 5don:a, 5knh:a, 6krr:c, 6ghm:c, 6ksh:c, 6tkh:c,
6ymt:c, 6hit:c, 6mmm:c, 6fom:c, 6don:c, 6knh:c

17 / 30

図 17

配列番号 17 S0174

1 tt[p:gaatcggt tgcaggagag gg]cgggtggcg atggcggagt tggttgggcc gcgggtgtac
61 agctgctgct gctgccattg ccggaaccac gtctgcactc cacgacgaca tcatctccaa
121 ggcctttcag gtgaagaaga acttgagttc ttggggattt gt[lg]gggctga ttgctcaagt
181 gacaaatact aatcttaggt catgtactga caatctagat tgaattggat ttaatcacta
241 ggcttctgat gtgcgtagtg ccggattgat ttggtatatt atgctaaaga a[q:ggtaaaaac
301 atggcatagc cgc]a

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mm/fom/don/knh/ssk

lksh:a, ltgr:a, lmnk:a, lyma:a, lhez:a, lakk:a, lnhh:a, lynt:a, lhit:a,
lmm:a, lfom:a, ldon:a, lknh:a

18 / 30

図 18

配列番号 18 S0185

1 [p:cgaccccatg aagcttttgc] ctctctcag cttcttgcca cagccaaagt atgatgctag
61 cctaatttat agcttactgt ttccggtgtt aaatttgctt gtagattcgg gttcacgtgc
121 aaacttgaat tgataacacc atgtcatgcc aactgctatc tttctcccaa caagtatttc
181 taaaactcaa ttgaacattg ataattctca agaaagctaa taagtgttac aaatactagc
241 agctctaaga aatatattca aattctaattg tatgcctatt aagcccaaag attccactat
301 tgtagtctgc attgtttgga attaattgat gaatctactg caggttctga ctacagaaat
361 agtgcagctt ctctgtccta tatgactata cgaaatgta caagcaaagc atgaggaatg
421 [23a]atataaaaa actaaacaaa tagtgaaata tctatctaata taacaccaag gagttgcgta
481 actctgtttg cttctctctgc aggggccaaa gtcaaggagg gggcagaggt ggtggccgtg
541 gtggtggaag aggcggtttc cgtggccgtg gtggtggtgg cttccgtgga agaggtgcgc
601 caaggggccg tgggtggacct cct[q:aggggtg gaggtcgtgg attt]

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

23ksh:c、23krr:c、23tgr:c、23mnk:c、23yma:c、23hez:c、23tkh:c、23akk:c、
23ash:c、23ank:c、23mtb:c、23hnh:c、23hit:c、23mmm:c、23fom:c、23ssk:c

19 / 30

図 19

配列番号 19 S0208

1 atntccccct atcggatcgg tcatggagat gctactgcca ccaccgatga actcctctcc
 61 cagtcgcggc gaatcaagcg accccgatga aaaatcgagc tccccggcga cggatcgacc
 121 tgccacgatg gcggattgag cggtcacct ctctcaccg gatccagcca
 g[1t]gtcgt[2g]gc
 181 catcttcgag ctcgagctgc atgcctccgt gcgacagcgg cggtaggatc gacaagggtg
 241 acgcggatct gtcggcctcc accccgatg agcgatttct cact[3ct]accg
 gattgag[4t]gt
 301 atatttggtt ttgtctttta tctgactgga tttctcttct ttttcttctt aattaggatt
 361 caattgttct taccataaag atgttttttag gcccgatttg gttaggtttt gggggaattt
 421 ggggttaaact ctatcggttt tctataggag agacggggat agattcggtc ggtttcttta
 481 ggagggacgg acagaggaag tgcggagggc ggaggggatc gtgaacaaag gggacgctcc
 541 accaaaata

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1hts:g、1mth:g、1yki:g、1krr:g、1tgr:g、1ghm:g、1mnk:g、1yma:g、1ksh:g、
 1akk:g、1ank:g、1mtb:g、1hnh:g、1ymt:g、1hit:g、1mmm:g、1don:g、1knh:g、
 1ssk:g、2hts:-、2mth:-、2yki:-、2krr:-、2tgr:-、2ghm:-、2mnk:-、2yma:-、
 2ksh:-、2akk:-、2ank:-、2mtb:-、2hnh:-、2ymt:-、2hit:-、2mmm:-、2don:-、
 2knh:-、2ssk:-、3hts:c、3mth:c、3yki:c、3krr:c、3tgr:c、3ghm:c、3mnk:c、
 3yma:c、3ksh:c、3akk:c、3ank:c、3mtb:c、3hnh:c、3ymt:c、3hit:c、3mmm:c、
 3don:c、3knh:c、3ssk:c、4hts:c、4mth:c、4yki:c、4krr:c、4tgr:c、4ghm:c、
 4mnk:c、4yma:c、4ksh:c、4akk:c、4ank:c、4mtb:c、4hnh:c、4ymt:c、4hit:c、
 4mmm:c、4don:c、4knh:c、4ssk:c

20 / 30

図 20

配列番号 20 S0007

1 gctagcttgg ccagcagtac gtgagtctga cgatgcat[p:gc atggatgacc ctgctaata]ta
61 attatacttc ctccatactc atagaaaaag tccttttagaa caatatttaa atcaaacatt
121 taaaatataa atcatgaata [3a]ctcttaaata tgttgagttt aaaaatgtaa aaattatatg
181 aatagatttg tcttgaaaaa tactttcata aaagtgcaca tatattactt ttcaataaat
241 atttttatag aaaaaagaag tcaaaattgt gttttgtaaa ccgtgtcgct gtccaaaacg
301 acttccttta cgagtatcaa ccaatcgaat tgccctccct ctcaaaagtc aacctcctcc
361 aaattaaagg catgcaagac gccaaaggcg gcagatctgt attcttcccg tggacggtgt
421 gcgcatgcat gcgtacaaac tttttttttt gttggatttg gtacgagcgt agctgataaa
481 gatagctagc tcatcagctt ctttcacaga atcacaagaa ctagtggcat atgaatccta
541 catacttcta tccaattcga tcgatcattc accttgtgcc tatgcaatag gcaatatctg
601 agctagcgaa cacagtaact ctcccctccc cctcctcac gcgccgatca taaattaata
661 ctccctccgt aatgtatgac gccgttaact ttttaagatg cgtttgatcg ttcatttat
721 ataaaaaat atataatttt tattatttat ttaaagtatg atttaactat tatatttgta
781 ttgacacaaa aatttgaata agataaatag tcaaacatcg a[q:tcaaaaagt caacggcatc
841 a]tacattaaa aaataaaggt agtattcaat attttgtaaa atattgatcg gacttgtaaa

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

3yki:g、3krr:g、3ghm:g

21 / 30

図 2 1

配列番号 21 S0070

1 aacagtcctt gtatgcactg aacgtactgg tgcgg[p:cttgc ttgggcaatc gtcaa]cggtc
61 aagacgtact aaagagtgga ttaacaaaat gaatgtttta ctaactgtat agtgaacaca
121 agcgggcacc tatagtcgta acgaccgccg ccaaattgcc cagttgcgta cgcgagaatc
181 gatcgatcga gccgatccga tcagctagaa tattcgaacg gaataaagag aacatctcca
241 tgtcctgata cgtgtgtaca cacacgtacg tacgtgtata cgtatacgcg cgtgtgtatg
301 tgtacatatg tatatatata tatatatata catatacata tgtatgtatg tatatatata
361 tatacatatg tatgtatgta tgtatatata tatacatatg tatgtatgta tgtatatata
421 tatatacata tgtatgtgac ggagctcgtg gctcctcacc gggagaccgc gcaggcccc[1t]
481 ctttgccggt tcggccgggg gcttaggggt agatctcaag ctctctctct ctgtgtgtgg
541 aaagatcgtc tgctagcaag aaacgcgaga caccggcgat gtatacaggt tcgggccgct
601 gagaagcgta ataccctact cctgtgtttt ggtggatctg tgtatgaatg agctacaaag
661 tgtgagccca cctctccccc gttctaagct ctgaatctgg caagaatcaa ccaacccctt
721 ctctatgggc aaggtcctcc tttatactt caaggggata ccacatgcac cttcccttt
781 ccaaactgga cttttcttct ctttatgaac ggagattggt atggttgccg tccgaatgac
841 acttcgatgg gacagccac acctacctcc actcccggcg gagacgggcg caacgtggga
901 tcgtggctgc cc[q:gttgctga cgcgaccagt gt]cagaccgg tcattcttgt ccaccacgcg

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

lmth:c、lghm:c、lhez:c、ldon:c

22 / 30

図 2 2

配列番号 22 S0310

1 gatgacttct actccctccg tcccctaata taagggattt tgacatttt[p:g ctttccttgt
61 ttgaccactc g]ttttatatt ttttgtaaata ataaaaaata aaaagttgtg cttaaagtac
121 tctggataat aaagtaagtc acaataaaaa taaataataa tttcaaaatt ttct[lg]aataa
181 gacgaatggt caaaca[2g]tgc aagtaaaatg tcaaaatccc ttatattaag
[3g]gacggaggg
241 agtatgtatt acctccaaaa tatagtaact t[4t]aagacgag atta[5g]atacc
acgaaaatat
301 attcttaact ctatgtatta ggttggtata tttttttaac agaga[6g]tagt atcaattcaa
361 agtggattaa ttactctttc [7c]gt[8c]ttaaag tataataact tctaagattc
aaaattttatc
421 cccaaacaaa caacttttca cctacatttc attctcaatc gactacaatc ttccactcca
481 [9t]atattttat tttctctac[10c] aatcacattc tttttcattt aacttcacac
tctctcttaa
541 aactttttata ttttgatacg gaggtagtagt aaaatttctg atcg[11g]ttgat gtgcagtggc
601 aaaagagctc at[12g]agacatt ccaactgcaca gacaatctgg gccttcttac atggactggc
661 acaattttaac atatt[13c]caag ctgtgcct[14-]gg tggatgtagg gatgcaagta
ggtcaacccg
721 t[15a]aatccact tatatgcaaa ataagtag[16a]t att[17t]acgggt ttaccttact
aatttggttt
781 ataaatgggt ttatgggtcg acccatttgc atctctaggt gcgataagt[q:c aagccacgac
841 atgaaaatgg] gttaccactt atttgacgta taagtagatt ggcgggtccg ttttaattgca
nhb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmnm/fom/don/knh/ssk

23 / 30

図 23

1krr:a	1tgr:a	1ghm:a	1mnk:a	1yma:a	1ksh:a	1akk:a	1ymt:a	1hit:a
1mmm:a	1fom:a	1don:a	1knh:a	2krr:a	2tgr:a	2ghm:a	2mnk:a	2yma:a
2ksh:a	2akk:a	2ymt:a	2hit:a	2mmm:a	2fom:a	2don:a	2knh:a	3krr:a
3tgr:a	3ghm:a	3mnk:a	3yma:a	3ksh:a	3akk:a	3ymt:a	3hit:a	3mmm:a
3fom:a	3don:a	3knh:a	4krr:-	4tgr:-	4ghm:-	4mnk:-	4yma:-	4ksh:-
4akk:-	4ymt:-	4hit:-	4mmm:-	4fom:-	4don:-	4knh:-	5krr:t	5tgr:t
5ghm:t	5mnk:t	5yma:t	5ksh:t	5akk:t	5ymt:t	5hit:t	5mmm:t	5fom:t
5don:t	5knh:t	6krr:a	6tgr:a	6ghm:a	6mnk:a	6yma:a	6ksh:a	6akk:a
6ymt:a	6hit:a	6mmm:a	6fom:a	6don:a	6knh:a	7krr:t	7tgr:t	7ghm:t
7mnk:t	7yma:t	7ksh:t	7akk:t	7ymt:t	7hit:t	7mmm:t	7fom:t	7don:t
7knh:t	8krr:t	8tgr:t	8ghm:t	8mnk:t	8yma:t	8ksh:t	8akk:t	8ymt:t
8hit:t	8mmm:t	8fom:t	8don:t	8knh:t	9krr:c	9tgr:c	9ghm:c	9mnk:c
9yma:c	9ksh:c	9akk:c	9ymt:c	9hit:c	9mmm:c	9fom:c	9don:c	9knh:c
10krr:t	10tgr:t	10ghm:t	10mnk:t	10yma:t	10ksh:t	10akk:t	10ymt:t	10hit:t
10mmm:t	10fom:t	10don:t	10knh:t	11krr:c	11tgr:c	11ghm:c	11mnk:c	11yma:c
11ksh:c	11akk:c	11ymt:c	11hit:c	11mmm:c	11fom:c	11don:c	11knh:c	12krr:c
12tgr:c	12ghm:c	12mnk:c	12yma:c	12ksh:c	12akk:c	12ymt:c	12hit:c	12mmm:c
12fom:c	12don:c	12knh:c	13krr:t	13tgr:t	13ghm:t	13mnk:t	13yma:t	13ksh:t
13akk:t	13ymt:t	13hit:t	13mmm:t	13fom:t	13don:t	13knh:t	14krr:g	14tgr:g
14ghm:g	14mnk:g	14yma:g	14ksh:g	14akk:g	14ymt:g	14hit:g	14mmm:g	14fom:g
14don:g	14knh:g	15krr:g	15tgr:g	15ghm:g	15mnk:g	15yma:g	15ksh:g	15akk:g
15ymt:g	15hit:g	15mmm:g	15fom:g	15don:g	15knh:g	16krr:g	16tgr:g	16ghm:g
16mnk:g	16yma:g	16ksh:g	16akk:g	16ymt:g	16hit:g	16mmm:g	16fom:g	16don:g
16knh:g	17krr:c	17tgr:c	17ghm:c	17mnk:c	17yma:c	17ksh:c	17akk:c	17ymt:c
17hit:c	17mmm:c	17fom:c	17don:c	17knh:c				

24/30

図 2 4

配列番号 23 S0375

1 aatctgatat ttcttctggt tcaaatgata attg[p:acacaa gtgtgccatt ttgc]aaaaac
61 cataccttta atttcatttt atggtacgta tgccaagtaa aacttgtgaa ctacactatt
121 tagttgctta [lg]tcataaaga actcaagtat tctttttttg aggaaaagcc ttagaagagg
181 acagggagag cctgttttca ttaaagaaga agagacttgg cccagttttt gaggggaaac
241 caggcccaaa aacctcagaa ctcaagtatt ctattatatg aaacttaata aactgcgtca
301 aagctgtggt cttcttttct gttgttgac atcgcaagtt taagcctgaa atatgttatt
361 tttccatggt gcccatctt caataatgga agctttatta aaactcagtc aaatacaaca
421 agatgataca ttctaattga gccactccc gacctctgca agaaatgcac acagccacaa
481 aacatgacct atctagacct ccattgcctt cttcatgctc ttaatttctg taacatactg
541 ttcacctgctc tggctatctg ggatttttca aggtgtacac ctacggtcat tttgatggaa
601 ggtgaagggg aattacctca actgaacaga ggatgctggt tatacagaac tactaacatc
661 gtaagaacat tctatgattc tgatgcagac atacagtaca gttttaatct aatcaaggag
721 gacgccatat gtgggacacc gcagcgaagt gtaaggagtc ctagaacatc taccttagga
781 gttaagaaga atctatgaga ttgtatgtat aaacatcagg tttctgcaaa tactcttatac
841 taaattccta atgcctgtat tgcaaataca tactttcagt tcgcattaaa gtgtgatagt
901 atgtatgtca cctt[q:tggttct caggtagctt ggca]aaatgg caggtcagac ggatcaagct

nbb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

lmth:c, ltgr:c, lmnk:c, ltkh:c, lash:c, lmtb:c, lnhh:c, lhit:c, lmmm:c,
ldon:c, lssk:c

25 / 30

図 25

配列番号 24 S0346

1 gagatatatt gcaatatttt gagaattatg tgaaatgatg atttaa[p:cgtg cttggatttt
 61 tgtaagc]tct aaaattttta gtaggataa actatataag catataggat attataaaaa
 121 gtgaaggaga ggtatattga aatattatgt ggattatgtg ggatgataat ttaattaaca
 181 tgcttgcat ttaaagttct aaaacttaaat aaattagcat gcttgcatga gattt[1a]agat
 241 gta[2t]taaatg ttagtgatg atgtggcatc tttgcatgtt gagctttaag atgtagtgga
 301 cttaaacttt atagaaa[3t]at a[4g]gattaatt cctatagaat gtcatgatgc
 aggatgtcat
 361 taataatect ccaagctgtt cccttttaac tttttt[5-]ccct gttacttgaa acttgactaa
 421 ggatt[6-]ctctt cgtattaatg tggattgtgt cactgaccat atggttgtat ctttctttca
 481 gcgcttcgct gggacttgga atgtttgtt[7g] tttttcagtg ctttcatggc catggaacte
 541 agaatgtctc caacgtgcaa attcttggtt gtgatctaga a[8g]atggttat ttgtttgaaa
 601 caatggaagc acttgatgtt cccttagcat atacacttgt gagcttgtgt tgatagaatt
 661 gtaaagctta catatgtttt agttctacta ttattttgaa ga[p:gggaaatg tgcagctgga
 721 tgc]

nhb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1krr:g, 1ghm:g, 1ksh:g, 1tkh:g, 1ymt:g, 1hit:g, 1mmm:g, 1fom:g, 1don:g,
 1knh:g, 2krr:g, 2ghm:g, 2ksh:g, 2tkh:g, 2ymt:g, 2hit:g, 2mmm:g, 2fom:g,
 2don:g, 2knh:g, 3krr:g, 3ghm:g, 3ksh:g, 3tkh:g, 3ymt:g, 3hit:g, 3mmm:g,
 3fom:g, 3don:g, 3knh:g, 4krr:a, 4ghm:a, 4ksh:a, 4tkh:a, 4ymt:a, 4hit:a,
 4mmm:a, 4fom:a, 4don:a, 4knh:a, 5krr:t, 5ghm:t, 5ksh:t, 5tkh:t, 5ymt:t,
 5hit:t, 5mmm:t, 5fom:t, 5don:t, 5knh:t, 6krr:gt, 6ghm:gt, 6ksh:gt, 6tkh:gt,
 6ymt:gt, 6hit:gt, 6mmm:gt, 6fom:gt, 6don:gt, 6knh:gt, 7krr:a, 7ghm:a, 7ksh:a,
 7tkh:a, 7ymt:a, 7hit:a, 7mmm:a, 7fom:a, 7don:a, 7knh:a, 8krr:c, 8ghm:c,
 8ksh:c, 8tkh:c, 8ymt:c, 8hit:c, 8mmm:c, 8fom:c, 8don:c, 8knh:c

26 / 30

図 26

配列番号 25 S0013

1 [p:aaattcggaa tggctagctg] ttgagagtca ttaactccat ccatgtgatg ggtaacacct
61 actctactct acagtataat actagtgtgg tactgatacg gtgattatat gctgtactat
121 cattatacta ctg[2c]ggccct gtttggttct at[3gg]actaat gtttagctct
cacatttttaa
181 [6t]tttaaatta gccctc[7a]aga atccaaacag gtggg[10c]taat tttgagctaa
tgtgaattag
241 cccccc[12c]aa aatattagcc cctccaag[29g]g [30a]tgctaataag ggtaatttt
gtgtggggat
301 catcaaaaa[17g c]agctctctc tc[18-]ctctcttt ctactctctc caacttttag
ccttgaatta
361 gcccatggat ccaaataac caccctagcc taatgttttag c[22a]tattaatt tatgactaaa
421 cattagctct taaaattagc cctgg[28-]ttaat cttaccaaca gagcctcggt gtgttacttg
481 tgcacgcgat gcacggacag ttccattctc tgtcttcaaa ggcttgaagc cggcaacata
541 tcgttttcat agacagct[27a]t tgtaccacaa cggtagtacc ctacttctcc atttctcact
601 cagcttcgtc tttaacaaca ccgttgtacc atgcttacca ttgcctctc tatgaaaata
661 aaaacatcat ttcgattttc aaaaatatag ctcaactggg ttcaactcaa ctgtctaatt
721 aggcgatgta catatcaaca tcggaacgtc tataataact tcttaaatct caaaatata[q:t
781 tggttgaatc atcggaggt]

nbb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mm/fom/don/knh/ssk

2krr:t、3krr:at、6krr:c、7krr:g、10krr:t、12krr:t、17krr:at、18krr:tctc、
22krr:c、28krr:g、27krr:c、29krr:a、30krr:g

27 / 30

図 27

配列番号 26 S0347

1 attttcagaa cagtcacat agacatgcc aattactaca agcgaagact ggagaggtta
61 ggattcaaat agttaataat taactttttt t[lg]gaatcagt atgctatata tagttaaact
121 ttaggagaaa gaacattggt gatatgaaga cactattgct ctaaataatga acaacacaca
181 caataaatct aagttcggtg tactgaacta tcaggatatgg acctatatc aaaactaaca
241 taggaggcca gcacgtggtc atatcccttg atcccagggt gaaccagttc atatttcaac
301 aagaggggaa gttgttccaa tcctggtttc cagaaaccac actaaacatc tttggaaaga
361 agacactcac cacgtataat agaactgctc acaagttgat cgggagcttc gtatgcaagc
421 tctatggccc tgaaaacgtg aaaaaatcac tcctgccaga actagagaac tccatgaggg
481 aaagcttggc gtcatggata ggaaaaccta gtgtcgaggt gaatgatggc gtgtcaaatg
541 taagttaaca tctgcatttc tacataagta ttcacaattg cacagtgctc ataaaatcat
601 catgatgttt tactatgatt aatttctatt gtgcagatga tcttcggcct agctgccaaa
661 cattgattgg cctcgacatc accattcagg agattgaaaa agacttcag

nbb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mm/fom/don/knh/ssk

lmth:c, lkrr:c, lghm:c, lyma:c, lhez:c, lksh:c, ltkh:c, lakk:c, lank:c,
lmtb:c, lynt:c, lhit:c, lmm:c, lfom:c, ldon:c, lknh:c, lssk:c

28 / 30

図 28

配列番号 27 S0330

1 cacac[p:atcaa gcacgatcgg aaacg]ttgta ctgtatctcc cgcataatga ttatggagtt
61 ggcactcgag atcaagatat cagaatagta ttttttctg ttttcaattc ttcctctcca
121 cagagctctt cctagcctcg gcttgtgaga gtaagcgcgc ctcccagcca actaagaatt
181 tgtcggcctt cgcaatgggt ggttgacaggt ctgctgttct caacttttgg attgacaaag
241 gaagacctaa ttaggacatt agcagggatt cctgtttgca ttgcagagtg tgaatcagct
301 gagactcttc ctccgctccc acatagatgc atatcattgt gctcttacta aagttgattt
361 gcagacttgt tgccctagaa aactcgtcta ggcaatgctt tagtggtgtt acataagcaa
421 tcgaagctcg tcaaataatc aatataacat tggcatactg cagagctgta cgaggtctct
481 gagggtacag atggtgtcca gagcagggtt tgctctaaga aggcattgga gcacatctgc
541 cggatgaaca agtaaggtga cataggatca ccttgacgta gccctctctt acaaccgac
601 cacctgcccc ggacttcatt gagaaggata gttgactttg aagtctgcta catgttgatc
661 acccaatgga tccaagtatc gggaatcctc ttgccctcat aatatctagc agactttccc
721 atcttatggt ttaggaggaa tt[la]tatggtg tttgacaaat ttctaattaa atcttatggt
781 catatatctt tcagggaaat atattggttt tggttctaag cacaactaca aatgtgtgaa
841 aagtacaaga agctaaaaca tactgcatat caa[q:aacttgg agtccacggc cat]aaatata

nhb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

lkrr:g

29 / 30

図 29

配列番号 28 S0336

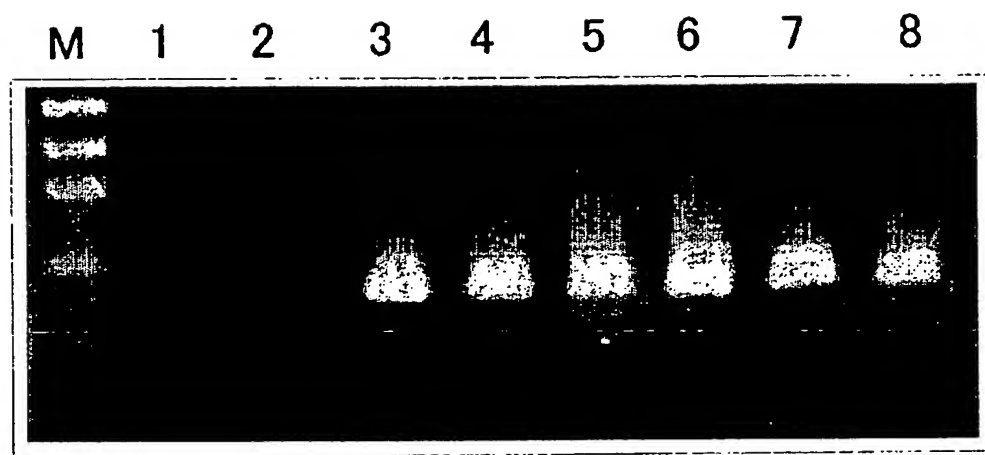
1 ttgaataaac catggaaaat tattacacat ataatacatt agc[p:gaccaaaa ttgtttcgcc
 61 ccta]actaga tgatgccccg cgctttgctg cgggatatat gttagatact ggagaaatga
 121 acaaatgatt tggattaataa tattatgaaa atggtttgag aat[1t]agtatg ttagtittg
 181 gaatgaagta aattgtagat ataattacta tatgcttgca tggt[2a]aactt tgtgtgctta
 241 atgggttgat gtg[3g]catgct [4a]catgta[5a]gt tttaggagtg ctaataaata
 ctatg[6t]ttat
 301 atgttgagct ttaggtgttt agtgg[7a]catt agctttatag aaagaagaga tccctttcct
 361 ttttcaggtg attttctgtc cagtccacct cttttcatct ttttttggtta taataactct
 421 cgtggacgag aatttagagt attaccatc caattcgtgt gcctcaactt ttttacactc
 481 aatccgtatg ccctctataa tactccgtat gacattagga ctgctaacta gtctatttgg
 541 taccactttc t[8c]agtttttg atgtatttct catttcttaa ctcaatttgt atttctttta
 601 tggcattgtg gacaattttg ccctaggcc cactgtaaga tcaaaggaag attgtcgtag
 661 gctctc[9c]gga ccttccatta tatttgagag ataaagtga taattcaagt catcaaaca
 721 gcataat[10g]aa acatccgacg cctcgagaga gaaatattgg agacattgct ggaccttag
 781 cctgccagtc aacttcagcc taaaatgtgc [q:tcgtcaaacc actcgaaggc] ggcgaccaga

nhb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1mth:c, 1krr:c, 1tgr:c, 1mnk:c, 1yma:c, 1hez:c, 1ksh:c, 1akk:c, 1hnh:c,
 1hit:c, 1mmm:c, 1fom:c, 1ssk:c, 2mth:g, 2krr:g, 2tgr:g, 2mnk:g, 2yma:g,
 2hez:g, 2ksh:g, 2akk:g, 2hnh:g, 2hit:g, 2mmm:g, 2fom:g, 2ssk:g, 3mth:a,
 3krr:a, 3tgr:a, 3mnk:a, 3yma:a, 3hez:a, 3ksh:a, 3akk:a, 3hnh:a, 3hit:a,
 3mmm:a, 3fom:a, 3ssk:a, 4mth:g, 4krr:g, 4tgr:g, 4mnk:g, 4yma:g, 4hez:g,
 4ksh:g, 4akk:g, 4hnh:g, 4hit:g, 4mmm:g, 4fom:g, 4ssk:g, 5mth:g, 5krr:g,
 5tgr:g, 5mnk:g, 5yma:g, 5hez:g, 5ksh:g, 5akk:g, 5hnh:g, 5hit:g, 5mmm:g,
 5fom:g, 5ssk:g, 6mth:c, 6krr:c, 6tgr:c, 6mnk:c, 6yma:c, 6hez:c, 6ksh:c,
 6akk:c, 6hnh:c, 6hit:c, 6mmm:c, 6fom:c, 6ssk:c, 7mth:g, 7krr:g, 7tgr:g,
 7mnk:g, 7yma:g, 7hez:g, 7ksh:g, 7akk:g, 7hnh:g, 7hit:g, 7mmm:g, 7fom:g,
 7ssk:g, 8mth:t, 8krr:t, 8tgr:t, 8mnk:t, 8yma:t, 8hez:t, 8ksh:t, 8akk:t,
 8hnh:t, 8hit:t, 8mmm:t, 8fom:t, 8ssk:t, 9mth:t, 9krr:t, 9tgr:t, 9mnk:t,
 9yma:t, 9hez:t, 9ksh:t, 9akk:t, 9hnh:t, 9hit:t, 9mmm:t, 9fom:t, 9ssk:t,
 10mth:a, 10krr:a, 10tgr:a, 10mnk:a, 10yma:a, 10hez:a, 10ksh:a, 10akk:a,
 10hnh:a, 10hit:a, 10mmm:a, 10fom:a, 10ssk:a

30 / 30

図 30



1 / 9 4

SEQUENCE LISTING

<110> Plant Genome Center

National Agricultural Research Organization

<120> Method for discriminating rice cultivars

<130> P2-A0202P

<140>

<141>

<150> JP 2002-168875

<151> 2002-06-10

<160> 114

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 900

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

2 / 9 4

<222> (309)

<223> /cultivar="ksh, krr, tgr, mnk, yma, tkh, akk, mtb,
hit, mmm, fom, don, or ssk"
/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (438)

<223> /cultivar="ksh, krr, tgr, mnk, yma, tkh, akk, mtb,
hit, mmm, fom, don, or ssk"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (593)

<223> /cultivar="ksh, krr, tgr, mnk, yma, tkh, akk, mtb,
hit, mmm, fom, don, or ssk"
/note=" "c" replaced with "t" "

<400> 1

tattcttcac gtgattcagc gaagataaca ctctttaaac actgcaatig ccactggaag 60
aattagcacg aatttgagat gttttttcac cggaagataa gticataact aaggigtittc 120
ttcgtttcaa caaacaagat ataaagtcca accagatttt acatttttga aaacctttta 180
tctttacata tatcagtggg ggagttgaaa tgggagatac atcaactcta aattagagaa 240
atttttagga tacaactaaa caagttaaac caaatitccc ttgtcctaaa cagcaaata 300
ttcagtgaca cattgggttg atttagcgac ttcaaacctt ttgtcttctt ttcatTTTT 360

3 / 9 4

caaatttcta gctctacaac taattcaatg actactcagt ttaaaacaaa acaaatggaa 420
gaitggitgg gagatttaag aagaaacttg ccaggitggg gcttgggtccg tggaggaaag 480
agggtcagg ggctaaccac ctgcgaactt agggctctgg cctccgtctc ccgccitttc 540
gccgagagcc cgcaaggatga cagagtgcgg cgaggctgac acttcggccg ttcgggggtcg 600
ccgcgtcggg cgiccgggcg gcgtcgtggg tcgggggact gagggcagct actcagctag 660
accgttggag cccaaaggaa tctaaggita caigctgtct tgttgagcct atttatggg 720
cctgcgactt tgcagttagc cgaggcatat tggaataaat ttaatttagg tctctcaatt 780
tgtcgtcgag cctgaaattc atcactggac cgcaaaacta gatacatgc attccccaac 840
ttagttaagg tagcagtggg ggtgggcagc cagcaggag ggccgtgggtg gtccgtgatg 900

<210> 2

<211> 960

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (304)

<223> /cultivar="yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez, ksh,
akk, hnh, hit, mmm, fom, or ssk"
/note=" "a" replaced with "t" "

<400> 2

tttaacttta ttgttagtat tagtactagc tctggttgtc tatcactctg ctgcctctgc 60
acatactgat ctagaacaca catgttctct acttctctgc agtcactgct actgacatgt 120

4 / 9 4

gggccctact ctctttgggc cagcatgtca gtgtcagcag aggatctcat tcctacagtc 180
aatccatgtg tgctactccg ttaaaaaaac gaattccaag ctacaaacct aaacacgttt 240
ttttggacgg aggggtatat ataaacaaag aaaaagcact gtaggtacat aatatagiac 300
tagatcagtc ttattacagc tgttcaaaaa cagttcaglia tatagtgaat ctagttggtc 360
tgttgctact gcagttaatt ggctctgggt gctttgttg atctgttgc actgcagtta 420
attagctccg gttgcttagt tgatcaagtt aattagctct ggctgtgccc taatcaaaat 480
tcataatatag tagcttcaag cagcacatac cacccttcc accttctggt ggatactcct 540
ctcttttata atttctgcag taagcttgaa acataagtag acactgccat taattaaaca 600
agcacagiga attaacccag ataigtgtaa tctgcatact aattaaatta ggttcgtgcc 660
agttcaaggc agccacaacc acatacaggc gatccatata ttgatttata tatctgatcc 720
gtttgttgag gttgggtgat caatcccccc tgaagcagct atgtcgagcc taattgcgat 780
ttgattaatc aattttctc atccaacgat ttaattatgc gtgattttaa tgattcgatc 840
ggtacagttt ttttctctt tcttcagtgc tagtgcttct actagtattc gtgacaataa 900
ccgtcggat ttggaatata tgattgctga tgtgggtgicg tttttattaa caagcccttg 960

<210> 3

<211> 840

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (201)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,

yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,

5 / 9 4

fom, don, knh, or ssk"

/note=" "a" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (356)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,

yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,

fom, don, knh, or ssk"

/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (450)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,

yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,

fom, don, knh, or ssk"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (514)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,

yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,

fom, don, knh, or ssk"

/note=" "c" replaced with "t" "

6 / 9 4

<220>

<221> variation

<222> (515)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,
yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (552)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,
yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (695)

<223> /caltivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,
yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "a" replaced with "g" "

<400> 3

7 / 9 4

tagcattagg ataaaagggg cgctccttca aaactttaaa atatcaaaga acaccctttt 60
gagattgaat tgcttcttct ggtctttgcc tcttctttcg cttttcagca ccagaatcgt 120
acttcciat tctagctgac ataattgagga ttgaggaaat aagtgtcttc ctatttcata 180
aacaaaagaa aagtaatttg agtcaaacag tcacatcact atttaagttt tgattcaatc 240
gatagtttga ttcattattac atctactatt tgatacgaga ctcaatgtct caactcttaa 300
gtctaaaagt aactttccaa tgcctgcaca aggtagtagt caggacacg aagataagtg 360
gatgagaggc actgacaaag gtagccggcc aaccgcttgg cattgatggc gcttgcccgt 420
tggtcgctcg ctgcctcgtg ttgggcctgg gtcgggactt tgcaggcatc gtcatttcat 480
cgctgaattt gaaatcgaga ttgactccag tcacacgaca tgactacaca acagtgtgac 540
ttgatctcgt tcgcctctca gccctccaatg caccatgatgg cagatgggcc tctctaatcg 600
attcacaggt agaagcagga ttgtggctcg gctatgcatt aatgtgcgcc tctccgatta 660
acttgggtgc cccaaaaaaa ttgggggaca ctctatcacc gccaatgtcg cacacaacct 720
tcgacaggct tgcccattag tctgacactc ctgcccacat cactgtctcca ttgtcatcca 780
tcacctgtc gaccattgtg gtgtgccaaa ccgcggtgtg cgtctgtttg tgattttgta 840

<210> 4

<211> 960

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (377)

<223> /cultivar="ksh, ymt, don, or knh"

/note=" "t" replaced with "c" "

8 / 9 4

<400> 4

tccaaaatcc acatgcaatg tgccattcca taggaatttc atgggatttg aaaatcgtca 60
atcctttgaa tcaaatggcc aaataggaaa atttcgtata ggatttgaat cctatgaaaa 120
tcctatataa atcctttgat tcaaagggcc ctaagtttcg tacgtgtgca actgtgcac 180
cagcacgtac tactacgtac tcctatgtac ttgtagtgtt gtagcctata catatgcatg 240
aagcgttcca ggaaaaatag gagtctcagt aatttgtgca ggcatgcggc ccatggagta 300
atagaccatg ctgaataatt tcagttcaaa ttcatactc caactgtaat accatacgca 360
aaccatcaac ttacaatact gatatacttg acatticaaa ataacatagc ctttggtttt 420
agctgacgta gcgactgagt aagctagcac gaggctcata tgggtccac atgtcagcgg 480
cccaatcttc ttccacatct ctctctctt cccaatccta atctctctcc atgcctctag 540
ggtgggtggg gtgggaagaa gctcgacagc ggtggccaac acatacgcaa ggagaagctc 600
gaggactgca agacgacttt cttttgcct accactggaa ggcaacacct tgtttccctg 660
ccttctagtt gagcgaggac actgaatgca tggaggtgtt gtgacccaaa tctacggcag 720
aatccctcgc cggaagttcg ccggagatct agcagagaag aggcgagaag aacagggtag 780
aaaggggaaa cagaggaag cagctgggga ggaggatatt ttcatctct tcatgaatt 840
gttttctcaa tacagctgga gtatatatac tcacgcactc caccctctt gcccttaggg 900
cccaccttgt catagacact tctatctata aagagtagaa gatgtattca cttctgaaaa 960

<210> 5

<211> 840

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

9 / 9 4

<221> variation

<222> (163)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, yma, hez, ank, mmm,
fom, or don"
/note=" "t" replaced with "c" "

<400> 5

tgtgtcatgt ttcatgtccaa gctaggcgcc acagaacgga caaaagtaag aaaatcgcta 60
cgtacaactc acgtctgacc agcacitlagc tgctaattgc cctagccaca tggagagaag 120
ttggctctgcg tgaagcgtaa cgattggcag ataaagttag attggatggg aatcggacga 180
gggagtcgaa cgtatagcaa cactccagaa gtaaagcagt aaaccgaaaa agttttgcta 240
tcacttgtat gaccgtctcc acaagtggcg actggcacga catggccact cgacagaacc 300
gcacaacaaa tgcgtatcct ttgcccctat tccatgcgaa gttagcgactt gcgagtcitt 360
gggcagggca tgcactactg acaagatgaa agaagaaaat caaccgtaat tcgggcgtgc 420
actgtctgcag aatagtcctt gtgatcatgt ccatgtgacc atgttcgta cgttctgagg 480
cgtcgatagc gagcgatgct ggtaatcgtg accaatctcg ttacagtgca ctttgttgac 540
gcgcacgtac gtcgctatat atgacaacgt cctgctacat atagccttgc tcactttcgg 600
actttgacgt atgtgaagag agcacgacta ggagccacta atcatatggt ttggtacatg 660
agaggatatg catgtttcac ttgacacca acatgtactg tactcatcta gtcaccta 720
tagtatittc catcggtgtc ctttctcct gtgatctctc gctttgcaca caaacctcgc 780
aacaaaacgg tctcgtgtc gccttcagc gcttcggcaa aggattggc ggttcatgag 840

<210> 6

<211> 900

<212> DNA

10 / 94

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (515)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk,
ank, hnh, ymt, hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (624)..(626)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk,
ank, hnh, ymt, hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "tgc" deleted"

<400> 6

aattattatt attattatit ccaatcagcc atatatatgg ctigccaacc gatggcagca 60
caaacttttc gcgtccgttt gaacccattc ttcaaacttg aagtiggatt tggacgtaat 120
agaagggtgca gtigttcact tgttcctggc atcaacgtgt acggttgaac aaatcggtgg 180
atctcttatg gttaacgtgc cctgttgatg tctgaaaacc catctgttct ttgttctaac 240
tcctatctta tcctctcatt ttttttcgct tggcttcaac ttctgttct actagttttg 300
aacgagtcac tcactcggac tcgagagctc tgaacttctg aacaagccaa aatgctgtct 360
gaaccgagat ctctttggcg ctgtcagcct gtcacaaact cgcaatccaa ttgcacttcc 420
agcggttgag caggttcaat tcaacatgac tticatcagg agatggtaag ttaggaacag 480
attactgtca caactcaca cagttattac tactatcgca acaaagtcta gctgtcctta 540

11 / 94

tcctcatcga ctggatactt cagaaacaag cataacagta gcattggagc aaaggacaca 600
gcatggctag aagtagatgc tgctgcctag agatatcatc tcgaattcat ggcatgaaca 660
aacgtcgttc atgcagccat gcaggaataa taagctcaga acaggattca ggacaaatic 720
aagctatcta caagctigcc agcatcatca tattataata attgctttta tagtcagcaa 780
actcgtacag aatagccaga tccaaatttc cactaaactat atatcatcat caggaatttt 840
aaaaagagaa ctcggaatcg atttcgcatg atattcgagg acaccaagc caaactgacg 900

<210> 7

<211> 900

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (247)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, mnk, hez, ksh, akk,
ank, hnh, ymt, hit, mmm, fom, or knh"
/note=" "a" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (341).. (342)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, mnk, hez, ksh, akk,
ank, hnh, ymt, hit, mmm, fom, or knh"
/note=" "tg" replaced with "tgtg" "

1 2 / 9 4

<220>

<221> variation

<222> (534)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, mnk, hez, ksh, akk,

ank, hnh, ymt, hit, mmm, fom, or knh"

/note=" "a" replaced with "c" "

<400> 7

taaccacitg cttcagtgc tgcattgcta gtacatcagt actgtcatgc cattgggttg 60
tgtggctgtg agtgaacatt gtgcagcaga gaagcaagca acaatagcat tggaccccc 120
agaaccagta cattatctct aictgtgaca gagaacacaa gaatgcaa at gctgataaag 180
aatcaagaaa gcattgtgca agcagcaagg tgagtagaga gtgatggaag cagagagaag 240
ctgcagacta gtgatgaaaa tgattggiga gtacagtgtg acaactaaca acaagtctct 300
atgaagaagc aggtactaag caigcaltg tgtgtgtgtg tgatggcatg tggatatcaat 360
gcttctgggg ttgttactt gtccaccaga gcaaccagga caagtcttct cactctacca 420
ttccggtgtc attttctct tcaacccctc ctcttgttgc tttagcaagc ctgcagctta 480
aactagatta tgttttctt cctcaataaa gattaatagt attgttaatc atgacatctt 540
tccttcacct gtttctctct caagagagag gaggagggtgc acaggcacag acagctcaca 600
caaacattgt gtgttcatg tctcttctt gcttacctt gtigaactgg ttgccttgg 660
gagacacaca ggacactcga ggctgcctgg ctggcctctt tgcaggag aaacctgcta 720
atctgctata atagtgtgc ttataattct atgattctat ccatcacaaa ggacacagta 780
tagctgcac ctttaactgc agcttgcagg ctttttcat cgtttacttg ttagcttacc 840
agccgcgacc aaaattttta gtactaaaac tcaatattag agttgatgtt agggtttttt 900

13 / 94

<210> 8

<211> 900

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

<221> variation

<222> (247)

<223> /cultivar="mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez,
ksh, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "a" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (259)

<223> /cultivar="mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez,
ksh, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "t" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (307)

<223> /cultivar="mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez,
ksh, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,

1 4 / 9 4

fom, don, knh, or ssk"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (358).. (359)

<223> /cultivar="mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez,

ksh, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,

fom, don, knh, or ssk"

/note=" "ta" replaced with "tgta" "

<220>

<221> variation

<222> (396)

<223> /cultivar="mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez,

ksh, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,

fom, don, knh, or ssk"

/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (444)

<223> /cultivar="mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez,

ksh, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,

fom, don, knh, or ssk"

/note=" "t" replaced with "c" "

1 5 / 9 4

<400> 8

tgatatagtgt caaatltact cataggttgt ttgtttttgc gatggaggga gtattggttt 60
gactggaatgg gtcattggaaa actggaaaag caacagcgggt atgcatggca aaagagggac 120
aaaagaacaa gacgaaacat aggtaggatt gcaggatgct caagtggaga cttgtagtgt 180
tagatgaagt gaagtgcacaa gccgaagtcc cgtgaacgaa gcaacaaaaa attgtgggag 240
ttttccattt gtgtatgtg tattatttgc gatttgaaat ccaggctgtg tttagttcct 300
tccaaagtta gaagtttggg ttgaaattga taccatgtga ctgaaaagtt gtgtgtgtat 360
gacaggttga tgtgatggaa aaagtttgaa gtttgaattc aaagtttgga tctaaacaca 420
gccccaatgt tttaaagagaa ctttaacgat taaatttggc cagcaccgggt aagccgataa 480
acaaaagatg agaataaagt actgtatata caacttccag cctcatcttt tcaattatgc 540
ttatgtttat caactaaaat tttaaatttc aaccttaaat ttagagttga ttttaggggt 600
ttttttatcg aagtttatit tttagccitt acttttagat cgtaggaaca cgtatatgaa 660
aaaattatit ttcatttgca attataccgt ttgtcttatt ccctatataa gcgaaacgag 720
ggaccttccc tgtcttgcit gtgatcatca gtcactcat ctatccgctg gatgtgaagt 780
tacgacagaa atgatccatc gttcaacttg aattacactt gtactactag cgggtgtacgc 840
tcgcatgtca gcgtaacgaa acgatgacat cgccatcaca gtaggagtat tggtaactaa 900

<210> 9

<211> 900

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

16 / 94

<222> (475)

<223> /cultivar="yki, yma, or ssk"

/note=" "t" replaced with "g" "

<400> 9

attacaaaa ttatatgaac atgcitaaac aattitacaag aataattctg gttgatggct 60
tgaggcacgt caaaatgttt cataaaggtg gaagtgagtg taactcaact ggtaatgttt 120
ttttatggaa tcagtcctacc taagttgaag tccctagactt acgccgatgc ttgtatttat 180
tgtaaatitt tttttcgtgc tagacgccta tcatgacttc gttaatctca agatatgctc 240
gcacagtctt tcggagggtgc tcatatgagi aagatgtgcg tgtgtacgtt catatgagtg 300
agtatacgtg tgctacgaga gtctgcgtat acagtggtgt tctacaaaa aatgtttcag 360
agtaaatttc aaaaaactgc aggtactttg atcaaatat tataaaacta cagatttaat 420
gtgatgtatt aaaaaactac atatttaacc atgaaattat tacagaacta cagatttaag 480
attaaglatc aaaaaactac aaatttaata ataaaattat cacaaagata taggttttgg 540
ggtttaaatt cttagcacta atatgttatg attgagttat aaatatctaa gttttgtaat 600
taaattgatg ctaaacatat agttccacga taattttgtt actaaatctg tagttttata 660
atattctacc ttaaatctat aattttatga gaaattcagt gttaaatctg tagttttgta 720
atatattatc ttaaatatat agttttgtga aatttaatca atgtttcaca ggagacgtgg 780
catatatgta tactccacag agcgtgtaat taaacgtaat taaaatatga ccaacatgaa 840
cgacggaaga ctacgtgtga accagccagc taattggccc tggaatccgt gatgaccaag 900

<210> 10

<211> 1020

<212> DNA

<213> Oryza sativa

17 / 94

<220>

<221> variation

<222> (209)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "g" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (323)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (758)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "c" replaced with "t" "

<400> 10

aaaagtccca cggaaacagc caaaagttaa ttaaacctta ccattgaatg cagcattggg 60
gaccttgctg cccttgaaag cttagttagt tcattgggat caaaaggaga aatttcatcc 120
aacacgggtgc actcttggtt cccttcaaag ttigtctata gcaacctttc aaatgctatt 180
ttttacagtt tagttacagt aatgctaagt actccccca ttccaaaata tagggcacia 240
cgattttttc ccctaagtgt gcataatacg aggttcgcat gcatgcgtgc atgctattga 300
ctagcaccctc cccctcctct aagtictatt tttaaagcct ctaccctcaa gatctctgat 360

18 / 94

ctctaattccc attgggtgca tgcattttat ttattgggat gatccaaatt agaaggtgat 420
 aataattttt tcttgggttt tgcgttaagag atagtgtctc attatatttt ggaatgtagg 480
 ggagtactca tttattctag cacaccaatc tcctgtgcac caaaagigat tctgcacata 540
 gattgagaat gcaaggtagt actaacttgc aattaagtga gigcattaat tgctgaatat 600
 gcataaatta agaacttaag atgcatgcaa agaatatgtc tcccagtttc tccactttct 660
 gatgtgaact tcccttatct agatcctaca gtgggaactt tttctgttc atcttgaagt 720
 atcttttgtt agctgcicat caaaataatt tatattgcct ataacataac ttataccatt 780
 ttgtcgaatg ttatttatct aacttcagt acacctatta tctttgttg gggaagtcca 840
 cacttgtaa atcccatgt cttttgcaga taacagccct gtgggattat ttttgcttcc 900
 acatcaatgg tgtgaaacca gtgcaaagcc gtggagcttt atcgattctt tgcattggcag 960
 caaagtcac tcccagcatt ttgggtactc atttgaaga tattattgat attgggtttg 1020

<210> 11

<211> 900

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (612)..(613)

<223> /cultivar="krr, tgr, yma, ksh, tkh, akk, ash, mtb,
 ymt, don, or knh"
 /note=" "ca" replaced with "ag" "

<400> 11

19 / 94

cttaatccct taatcttcat gtttagaaga ttccaacggg ggatccagtc ttcaacttgg 60
cacgcacacg tctcaatctg cctctccatt aatagccaaa caagctgtgt ggcttttctc 120
ttgcaacttg cagctgtgct gatgttgctg cattctgggtg aactaggcta aaaggcattt 180
tgtggtcagg ccctgttttag ttttacggtg aaaagtittg gcgtgtcaca tcggatatac 240
ggacacacat ttaaataatta aatatagctt aataacaaaa taaattacat attccgtctg 300
taaattgcga gacgaattta ttaagccata ttaatacttt tatcaaatca tggcgcaatt 360
aggcttaaaa gattcgtctt acaatttaca cgcaatctgt gtaattagtt tttttattta 420
tatttaatac taaatacatg tgcctaaata ttcatgiga catgatgaaa agtttttgcg 480
tgaaaactaa acaggaccic atccacattg ccatggatac atatcattca tgccatggct 540
agctacctct igataatagt agaattgtca cgccccgaac tagtcccgac cggaactagc 600
ccgtgacgct ccaatttaac ctgttaatcg ataccagtc caggaaatag tgctggatatg 660
acaggagac agaatacac agcaacagag gtctctttat tatagagtag aggtacagtc 720
atgttgggct gcggacagat cccgagctca caactgcatt acagaaggga aacggaagcc 780
aggacttgga ccaaacaaca caggcgcgac ttgggaacta ggccgaaacc ctaaaactca 840
tcatagccgg ctgtctctg gaagaactcc tcatcagcag gatccgcttc atcttcttca 900

<210> 12

<211> 960

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (765)

<223> /cultivar="ghm, ksh, ymt, hit, mmm, fom, don, or

20 / 94

knh"

/note=" "g" replaced with "t" "

<400> 12

acggaaaatg atgtaatctt ggaccacict cigtgaccig tgttatgact tatgactgtg 60
ctgcaaaggg gagtatgaat tattgttctc aaaactagag atcactcatg ctccaggaag 120
ccttgaattt gtcttgattt atactgaaag taacctggat tcataaaatt cttgtgttcg 180
aagcgaatgg ttgaggaata tlatcgtttc attgagagag agatttcac tcagctagaa 240
aagttaatac ataaaaaaat gtgctagat acctcattga agacagttaa acaccaatgg 300
aaaaaaaatg ttgcaacata tacctcattt tatitcaaca ttgcagtatt aaaagaaatc 360
ttttatata gctccttta aaaaagcacc aagaatgaca agtttttagg ggtttaactt 420
ggtcaggaag aggatgtgca tcattgtcag gaagacaacg gtgtgaaacc tgtcatgaat 480
ggtagcctcc cgagacttga gctagaggac ctagtaaacac cgaggcatca actagccagg 540
gatgcaagta ggcaatcaat cgaccatctc tatgagagca cgcgltgctaa tttagtttaa 600
cgagtttcag atactaccta tgtcctaaaa taagitaatt ttcatccat cacacatata 660
ccaatacaaa catcaaaaga ttagaatacc agtcactaga tgaatagaag tcgggggtact 720
caaaatcggt catatgcttg acaagagagt cgagatgac caaagtaaaa caaatacaag 780
attattcgat tcagattgaa aacattgggt aaaagatagt tcaaagcaaa acatcggtaa 840
taaaagatga tttaaagtga aatttgctca ttattatgat aatagctcgt ttgatttacg 900
aggltggcga ctaattaaagg ctattttagt tcccaaaata aaaaatttca cgcagtcata 960

<210> 13

<211> 668

<212> DNA

<213> Oryza sativa

21 / 94

<220>

<221> variation

<222> (571)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, ghm, mnk, yma, tkh, akk,
mtb, hnh, or don"
/note=" "g" replaced with "t" "

<400> 13

gaagcatctt aattccagac aagtcaaatt tcatagcaag ggacgatgtt atgattattt 60
attgaattgt acagtactat tcaacctgac aaacattgtg caatcacatg gaaatggagc 120
gttcatttat caaatitgca cgaattcggc gatctcaacc tcaagaggag caactaccgt 180
attcatccic aatgitaatt tctccccgaa catattatcc tactaccgta ttcatectca 240
atgitaattt ctccccgaac atattatcct ttcgtgcttg atctaatttt aggcatagct 300
caaaattagt gcaactaatc taaaaactgt gaatggacaa aaatatacag cttcagcttc 360
tcaaaaccac ttcccccaatt cgaacctgaa caaaacccaa ctctgatggc acagtaaata 420
actaactagg gcaagaacca tcgcgcgaca cgggcgcggg ctagatcgat cgatcggtcg 480
atcaagcccc tcccccaaga gggaaacacg accagcgaca gcgatccatc caacgccgtc 540
gcatcattca cagctatagc ctagcttgga ggaatcaaac catggatttt ggccttgacg 600
ttgtcgatgt gtcgctgctc tccacctcga gaaacntggc cccgtcaggt cttaaatacg 660
ggtgtctt 668

<210> 14

<211> 900

<212> DNA

22/94

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (660)

<223> /cultivar="hts, mth, tgr, yma, akk, or ank"

/note=" "a" replaced with "g" "

<400> 14

ttataaccaca ggtgctgaca ttaatatgct ttactticag ttgtgtttt gtctctgtt 60
taatcctgca tatgcctgtt aaatttatta caaagactat attaaactag tttaacctgg 120
cgaaaatat aaactagctt tgatagtict tgttgcaaca acagaaccgt attgtttta 180
tticaaatat tatgttccat tagcggaaag agcttggttg ttgtgttacc tcttttttt 240
ggcaaatgaa gaatgctata tacaagctag attgcaatcg tatacagga aattgactga 300
tcatgtatgt cgacatgtcg tcttttatgg gagatgaagt tttaacttcc cccataactc 360
tgtttaggct aaatgtagt ttgcagaaat ttctgccta aatctatttt gtactttgtt 420
gatctaacat tccttacact tagtttctcc atttatgat tgattatttt tctctgtttg 480
ttgaggcctt agcatgtttt gcttctcct ttgtctggca ggtgctgcgt gaggttacca 540
gtgatactat tggagcttgt atatgatgtg tcctttggga ccattcttct gcatagctgt 600
gcagaagctg ctactagtgt gtgggagaac ctgttgggaag acagcttctg ctgttttgta 660
taataagatc agcttctagt tagtattact tataagttgc tgcagaattt tgcgttttg 720
cagcaccgca gaattttta ctgtgtagaa gctgtagaac atctatatat cactttcaa 780
ttigaagaat tgtaaagaga ggcaatggcc gcattctaaag caggtgctct atggaaaatc 840
cctagtgtcg catgtcatat agttagccat actagtatat agtagtatgt tggttaataa 900

23 / 94

<210> 15

<211> 490

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (223)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,
yma, hez, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit,
mmm, fom, don, knh, or ssk"
/note=" "g" replaced with "a" "

<400> 15

cttltgtggc acacttgcgg cggltgcgag ggcggcccgcc ccagaagaaa ccaggccggg 60
cttggcccgcc cgcgggtcag catcttcacc gacgacacac ctgcacttct acttccacga 120
caaggtgagc aagccatcac cgacggcagt gcgggtgggtg gacccggtgg acccgatc 180
gcggctcttc ttltgggaiga tcaacgtcat ggacgatccg ctgacggagg ggcccagacc 240
cgagtccaag cccatgggcc gggcccaggg gctgiacatg ggctcagacc aggccaagct 300
gggcttcttc caggcaatga acctgggtgt caccgacggc acctacaacg gcagcgtggt 360
caccgtgctc ggccgcaact gcccttcga cgacgtccgg gagatgccgg tgatcggcgg 420
caccggcgcc ttccgttcg cccgcggcta cgcccaggcc aggacgcaca ccttggacct 480
caagaccgga 490

<210> 16

24/94

<211> 460

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (55)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"
/note=" "t" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (59)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"
/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (133)..(134)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"
/note=" "tc" replaced with "ttc" "

<220>

25 / 94

<221> variation

<222> (162)..(163)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"
/note=" "tc" replaced with "tgtc" "

<220>

<221> variation

<222> (247)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"
/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (319)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"
/note=" "g" replaced with "c" "

<400> 16

tggcatcttt gcatgttgag ctttaagatg tagtgggcctt taactttata gaaatatagg 60
attaattcct atagaatgtc atgaatgcagg atgtcattaa taatcctcca agctgttccc 120
ttttaacttt tticccigtgtt acttgaaact tgactaagga ttctcttcgt attaatgttg 180
atttgtgtcac tgaccataatg gttgtatctt tctttcagcg cttcgctggg acttggaatg 240
tttgttgttt tticagtgtt tcatggccat ggaactcaga atgtctccaa cgtgcaaatt 300

26 / 94

cttggttgtg atctagaaga tggttatttg ttigaaacaa tggaagcact tgatgttccc 360
ttagcatata cacttgtgag ctgtgttga tagaattgta aagcttacct atgttttagt 420
tctactatta ttitgaagag ggaaatgtgc agctggatgc 460

<210> 17

<211> 314

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (163)

<223> /cultivar="ksh, tgr, mnk, yma, hez, akk, hnh, ymt,

hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "g" replaced with "a" "

<400> 17

ttgaatcggg tgcaggagag ggccggtggcg atggcggagt tggttgggcc gcgggtgtac 60
agctgctgct gctgccattg ccggaaccac gctgcactc cagcagaca tcattccaa 120
ggcctttcag gigaagaaga acttgagttc ttggggattt gtggggctga ttgctcaagt 180
gacaaatact aatcttaggt catgtactga caatctagat tgaattggat ttaatcacta 240
ggcttctgat gtgcgtagtg ccggtatgat ttggtatatt atgctaaaga aggtaaaaac 300
atggcatagc cgca 314

27 / 94

<210> 18

<211> 644

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

<221> variation

<222> (421)

<223> /cultivar="ksh, krr, tgr, mnk, yma, hez, tkh, akk,
ash, ank, mtb, hnh, hit, mmm, fom, or ssk"
/note=" "a" replaced with "c" "

<400> 18

cgaccccatg aagcttttgc ctctctcagc ctctctgcca cagccaaagt atgatgctag 60
cctaatttat agcttactgt ttccgggtgt aaatttgcgt gtagattcgg gttcacgtgc 120
aaacttgaat tgataacacc atgtcatgcc aactgctatc ttcttcccaa caagtatttc 180
taaaactcaa ttgaacattg ataattctca agaaagctaa taagtgttac aaatactagc 240
agctctaaga aatatattca aattctaatt tatgcctatt aagcccaaag attccactat 300
tgtagtctgc attgittgga attaattgat gaatctactg caggttctga ctacagaaat 360
agtcgagcct ctctgtccta tatgactata cgaaatgtta caagcaaagc atgaggaatg 420
aataataaaa actaaacaaa tagtgaaata tctatctaatt taacaccaag gatttgcgta 480
actctgtttg cttctctgc aggggccaaa gtcaaggagg gggcagaggt ggtggccgtg 540
gtggtggaag aggcggtttc cgtggccgtg gtggtggtgg ctcccggtga agaggtcgcg 600
caaggggccg tggtagacct cctaggggtg gaggtcgtgg attt 644

28 / 94

<210> 19

<211> 549

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> misc_feature

<222> (3)

<223> n= a, t, g, or c

<220>

<221> variation

<222> (172)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma,
ksh, akk, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm, don, knh,
or ssk"
/note=" "t" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (178)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma,
ksh, akk, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm, don, knh,
or ssk"
/note=" "g" deleted"

29 / 94

<220>

<221> variation

<222> (285)..(286)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma,
ksh, akk, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm, don, knh,
or ssk"
/note=" "ct" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (298)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma,
ksh, akk, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm, don, knh,
or ssk"
/note=" "t" replaced with "c" "

<400> 19

atntccccct atcggatcgg tcatggagat gctactgcc aaccgatga actcctctcc 60
cagtcgcggc gaatcaagcg accccgatga aaaatcgagc tccccggcga cggatcgacc 120
tgccacgatg gcggattgag cggctcacct ctctcaccg gatccagcca gtgtcgtggc 180
catcttcgag ctcgagctgc atgcctccgt gcgacagcgg cggatggatcg gacaagggtg 240
acgcggatct gtcggcctcc accccgatg agcgatttct cactctaccg gattgagtgt 300
atatitggct ttgtctttta tctgactgga ttctcttctt tttcttctt aattaggatt 360
caattgttct taccataaag atgttttttag gcccgatttg gitaggtttt gggggaattt 420
gggttaaact ctatcggttt tctataggag agacggggat agattcggtc ggtttcttta 480
ggagggacgg acagaggaag tgcggagggc ggaggggatc gtgaacaaag gggacgctcc 540

3 0 / 9 4

accaaaata

549

<210> 20

<211> 900

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (141)

<223> /cultivar="yki, krr, or ghm"

/note=" "a" replaced with "g" "

<400> 20

gctagcttgg ccagcagtac gigagtctga cgatgcatgc atggatgacc ctgctaatta 60
attatacttc ctccatactc atagaaaaag tcctttagaa caatatttaa atcaaacatt 120
taaaatataa atcatgaata actcttaaatt tgttgagttt aaaaatgtaa aaattatatg 180
aatagatttg tcttgaaaaa tactttcata aaagtcacac tatattactt ticaataaat 240
atttttatag aaaaaagaag tcaaaattgt gttttgtaaa ccgtgtcgct gtccaaaacg 300
acttccittt cgagtatcaa ccaatcgaat tgccctccct ctcaaaagtc aacctcctcc 360
aaattaaagg catgcaagac gccaaaggcg gcagatctgt attcttcccg tggacgggtgt 420
gcgcatgcat gcgtacaaac tttttttttt gttggatttg gtacgagcgt agctgataaa 480
gatagctagc tcatcagctt ccttcacaga atcacaagaa ctagtggcat atgaatccta 540
catacttcta tccaattcga tcatcattc acctgtgcc tatgcaatag gcaatatctg 600
agctagcgaa cacagtaact ctccctcccc cctcctcac gcgccgatca taaattaata 660

3 1 / 9 4

ctccctccgt aatgatgac gccgttaact ttttaagatg cgtttgatcg ttcatcttat 720
ataaaaaaat atataatitit tattatttat ttaaagtatg atttaactat tatatttgta 780
tttgcacaaa aatttgaata agataaatag tcaaacatcg atcaaaaagt caacggcatc 840
atacattaaa aaataaaggt agtattcaat attttgtaaa atatigatcg gacttgtaaa 900

<210> 21

<211> 960

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

<221> variation

<222> (480)

<223> /cultivar="mth, ghm, hez, or don"

/note=" "t" replaced with "c" "

<400> 21

aacagtcctt gtaigcacig aacgtactgg tgcggcttgc ttgggcaatc gtcaacggtc 60
aagacgtact aaagagtgga ttaacaaaat gaatgttita ctaactgtat agtgaacaca 120
agcgggcacc tatagtcgta acgaccgccg ccaaattgcc cagtigcgta cgcgagaatc 180
gatcgatcga gccgatccga tcagctagaa tattcgaacg gaataaagag aacatctcca 240
tgtccigata cgtgtgtaca cacacgtacg tacgtgtata cgtatacgcg cgtgtgtatg 300
tgtacatatg tatatatata tatatatata catatacata tgtatgtatg tatatatata 360
tatacatatg tatgtatgta tgtatatata tatacatatg tatgtatgta tgtatatata 420
tatatacata tgtatgtgac ggagctcgtg gctcctcacc gggagaccgc gcaggcccct 480

3 2 / 9 4

ctttgccggt tcggccgggg gcttaggggtg agatctcaag ctctctctct ctgtgtgtgg 540
aaagatcgic tgctagcaag aaacgcgaga caccggcgat gtatacaggt tcgggccgct 600
gagaagcgta ataccctact cctgtgtttt ggtggatctg tgtatgaatg agctacaaag 660
tgigagccca cctctcccc gttctaagct ctgaatctgg caagaatcaa ccaaccctt 720
ctctatgggc aaggctctcc ttttatactt caaggggata ccacatgcac ccttccctt 780
ccaaactgga cttttcttct ctttatgaac ggagattggt atggttgccg tccgaatgac 840
acttcgatgg gacagccac acctacctcc acitccggcg gagacggcg caacgtggga 900
tcgtggctgc ccgttgcga cgcgaccagt gtcagaccgg tcattcttgt ccaccacgcg 960

<210> 22

<211> 900

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (175)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (197)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,

33/94

hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (231)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,

hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (272)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,

hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "t" deleted"

<220>

<221> variation

<222> (285)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,

hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "g" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

3 4 / 9 4

<222> (346)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (381)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (384)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (481)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "t" replaced with "c" "

3 5 / 9 4

<220>

<221> variation

<222> (500)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (585)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "g" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (613)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "g" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (676)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"

3 6 / 9 4

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (688)..(689)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "tg" replaced with "tgg" "

<220>

<221> variation

<222> (722)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (749)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (754)

37 / 94

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "t" replaced with "c" "

<400> 22

gatgacttct actccctccg tcccctaata taagggattt tgacattttg ctttccttgt 60
ttgaccacac gttttatatt ttttgtaaata ataaaaata aaaagtgtgt cttaaagtac 120
tciggaataa aaagtaagtc acaataaaaa taaataataa ttcaaaaatt ttctgaataa 180
gacgaatggt caaacagtgc aagtaaaatg tcaaaatccc ttatattaag ggacggaggg 240
agtatgtatt acctccaaaa tatagtaact ttaagacgag attagatacc acgaaaatat 300
attcttaact ctatgtatta ggttggttata tttttttaac agagagtagt atcaattcaa 360
agtggattaa ttactcttcc cgtcttaaag tataataact tctaagattc aaaatttacc 420
cccaaacaaa caacttttca cctacatttc attctcaatc gactacaatc ttccactcca 480
tatattttat tttctctacc aatcacattc tttttcattt aacttcacac tctctcttaa 540
aacttttata ttttgatacg gaggtagtagt aaaatttctg atcgggtgat gtgcagtggc 600
aaaagagctc atgagacatt ccactgcaca gacaatctgg gccctcttac atggactggc 660
acaatttaac atattccaag ctgtgccctg tggatgtagg gatgcaagta ggtaaccccg 720
taaattccact tatatgcaaa ataagtagat atttacgggt ttaccttact aatttgggtt 780
ataaatgggt ttatgggtcg acccatttgc atctctaggt gcgataagtc aagccacgac 840
atgaaaatgg gitaccactt atttgacgta taagtagatt ggcggttccg ttttaattgca 900

<210> 23

<211> 960

<212> DNA

<213> Oryza sativa

38 / 94

<220>

<221> variation

<222> (131)

<223> /cultivar="mth, tgr, mnk, tkh, ash, mtb, hnh, hit,

mmm, don, or ssk"

/note=" "g" replaced with "c" "

<400> 23

aatctgatai ticttctggt tcaaatgata attgacacaa gtgtgccatt ttgcaaaaac 60
catacctiia atttcatttt atggtacgta tgccaagtaa aacttgigaa ctacactiatt 120
tagttgcita gtcataaaga actcaagtai tctttttttg aggaaaagcc ttagaagagg 180
acaggagag cctgttttca ttaaagaaga agagacttgg cccagttttt gaggggaaac 240
caggcccaaa aacctcagaa ctcaagtatt ctattatatg aaacttaata aactgcgtca 300
aagctgtggt cttcttttct gtgttgacac atcgcaagtt taagccigaa atatgttatt 360
tttccatgtt gccatttct caataatgga agctttatta aaactcagtc aaatacaaca 420
agatgataca ttctaattga gccactccc gacctctgca agaaatgcac acagccacaa 480
aacatgacct atctagaccc ccattgcctt ctcatgctc ttaatttctg taacatactg 540
ttcaccgtgc tggctatctg ggatttttca aggtgtacac ctacggtcatt ttgatggaa 600
ggtgaagggg aattacctca acigaacaga ggatgctggt tatacagaac tactaacatc 660
gtaagaacat tctatgattc tgaigcagac atacagtaca gttttaatct aatcaaggag 720
gacgccatct gtgggacacc gcagcgaagt gtaaggagtc ctagaacatc tacttagga 780
gttaagaaga atctatgaga ttgtatgtat aaacatcagg tttctgcaa tactcttatt 840
taaattccia atgcctgtat tgcaaatata tactttcagt tcgcattaaa gigtgatagt 900
atgtatgta cctttgttct caggtagctt ggcaaaatgg caggtcagac ggatcaagct 960

39 / 94

<210> 24

<211> 723

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (236)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,

don, or knh"

/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (244)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,

don, or knh"

/note=" "t" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (318)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,

don, or knh"

/note=" "t" replaced with "g" "

40 / 94

<220>

<221> variation

<222> (322)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"
/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (396)..(397)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"
/note=" "tc" replaced with "ttc" "

<220>

<221> variation

<222> (425)..(426)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"
/note=" "tc" replaced with "tgtc" "

<220>

<221> variation

<222> (510)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,

41 / 94

don, or knh"

/note=" "g" repalaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (582)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,

don, or knh"

/note=" "g" replaced with "c" "

<400> 24

gagatatatt gcaatatitt gagaattiatg tgaatgatg atttaacgtg cttggatttt 60
tgtaagctict aaaatitttaa gtgaggataa actatataag cataataggat attataaaaa 120
gtgaaggaga ggtatatiga aatattatgt ggattatgtg ggatgataat ttaattaaca 180
tgcttgcaatt ttaaagttict aaaacttaat aaattagcat gcttgcatga gatttaagat 240
gtattaaatg ttagtggatg atgtggcatc ttigcatgtt gagctttaag atgtagtggg 300
ctttaacttt atagaaatat aggattaatt cctatagaat gtcatgatgc aggatgtcat 360
taataatcct ccaagctgtt cccitttaac tttttccct gttacttgaa acttgaciaa 420
ggattctctt cgtattaatg tggatttgtt cactgaccat atggttgtat ctttcttica 480
gcgcttcgct gggacttgga atgtttgttg tttttcagtg ctttcatggc catggaactc 540
agaatgtctc caacgtgcaa atctttgggt gtgatctaga agatggitat ttgtttgaaa 600
caatggaagc acttgatgtt cccttagcat atacacttgt gagcttgtgt tgatagaatt 660
gtaaagctta catatgtttt agttctacta ttattttgaa gagggaaatg tgcagctigga 720
tgc

723

4 2 / 9 4

<210> 25

<211> 799

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (134)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (153)..(154)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "gg" replaced with "at" "

<220>

<221> variation

<222> (181)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "t" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (197)

43 / 94

<223> /cultivar="krr"

/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (216)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (248)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (269)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (271)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "a" replaced with "g" "

4 4 / 9 4

<220>

<221> variation

<222> (310).. (311)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "gc" replaced with "at" "

<220>

<221> variation

<222> (322).. (323)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "cc" replaced with "ctctcc" "

<220>

<221> variation

<222> (402)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "a" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (445).. (446)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "gt" replaced with "ggt" "

<220>

45 / 94

<221> variation

<222> (559)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "a" replaced with "c" "

<400> 25

aaattcggaa tggctagctg ttgagagica ttaactccat ccatgtgatg ggtaacacct 60
actctactct acagtataat actagtgigg tactgatacg gtgattatai gcigtactiat 120
cattatacia ctgcggccct gtttggttct atggactaat gtttagctct cacattitaa 180
ttitaaatta gccctcaaga atccaaacag gtgggctaata ttgagctaa tgtgaattag 240
ccccctcaa aatattagcc cctccaaggg atgctaatag ggtaatttt gtgtggggat 300
catcaaaaag cagctctctc tectctcttt ctactctctc caacttttag ccttgaattia 360
gccccatggat ccaaataac caccctaggc taatgttttag catattaat tatgactaaa 420
cattagctct taaaattagc cctggttaat cttaccaaca gagcctcggt gtgttacttg 480
tgcacgcgat gcacggacag tticattctc tgtcttcaaa ggcttgaagc cggcaacata 540
tcgttttcat agacagctat tgtaccacaa cggtagtacc ctactctcc attctcact 600
cagcttcgtc tttaacaaca ccgttgtacc atgcttacca ttgcctctc tatgaaaata 660
aaaacatcat ttcgattttc aaaaatatag ctcaactggt ttcaactcaa ctgtctaatt 720
aggcgatgta cataatcaaca tcggaacgtc tataataact tcttaaatct caaaatatat 780
tggttgaatc atcggaggt 799

<210> 26

<211> 709

<212> DNA

<213> Oryza sativa

46 / 94

<220>

<221> variation

<222> (92)

<223> /cultivar="mth, krr, ghm, yma, hez, ksh, tkh, akk,
ank, mtb, ymt, hit, mmm, fom, don, knh, or ssk"
/note=" "g" replaced with "c" "

<400> 26

attttcagaa cagtcacat agacatgcca atttactaca agcgaagact ggagaggtta 60
ggattcaaat agttaataat taactttttt tggaatcagt atgctatata tagttaaact 120
ttaggagaaa gaacattgtt gatatgaaga cactatigct cttaaataga acaacacaca 180
caataaatct aagttcgggt tactgaacta tcaggatgg acctatattc aaaactaaca 240
taggaggcca gcacgtggtc atatcccttg atcccagggt gaaccagttc atatttcaac 300
aagaggggaa gttgttccaa tcctggtttc cagaaaccac actaaacatc ttiggaaaga 360
agacactcac cacgtataat agaactgctc acaagtigat ccggagcttc gtagcaagc 420
tctatggccc tgaaaacgtg aaaaaatcac tcctgccaga actagagAAC tccatgaggg 480
aaagcttggc gtcatggata ggaaaaccta gtgtcgaggt gaatgatggc gtgtcaaatg 540
taagttAACA tctgcatttc tacataagta ttcacaattg cacagtgctc ataaaatcat 600
catgatgttt tactatgatt aatttctatt gtgcagatga tcttcggcct agctgccaaa 660
cattgatitg cctcgacatc accattcagg agattgaaaa agacttcag 709

<210> 27

<211> 900

<212> DNA

47 / 94

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (743)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "a" replaced with "g" "

<400> 27

cacacatcaa gcacgatcgg aaacgttgta ctgtatctcc cgcataatga ttatggagtt 60
ggcactcgag atcaagatat cagaatagta tattttctcg ttttcaattc ttccctctcca 120
cagagctctt cctagcctcg gcttgtgaga gtaagcgcgc ctcccagcca actaagaatt 180
tgtcggccit cgcaatggit gggtgcaggt ctgctgttct caacttttgg attgacaaag 240
gaagacctaa ttaggacatt agcagggatt cctgtttgca tgcagagtg tgaatcagct 300
gagactcttc ctccgctccc acatagatgc atatcatgt gctcttacta aagttgatit 360
gcagacttgt tgccttagaa aactcgtcta ggcaatgctt tagtggtgtt acataagcaa 420
tcgaagctcg tcaaataatc aatataacat tggcactctg cagagctgta cgaggctctt 480
gagggtacag atgggtgtcca gagcagggtt tgctctaaga aggcattgga gcacatctgc 540
cggatgaaca agtaaggta cataggatca ccttgacgta gccctctctt acaaccgatc 600
cacctgcccc ggacttcatt gagaaggata gtigactttg aagctctgta catgttgatc 660
accaatgga tccaagatc gggaatcttc ttgccctcat aatatctagc agactttccc 720
atcttatggt ttaggaggaa ttatatggtg ttigacaaat ttctaattaa atcttatggt 780
catatatitc tcagggaat atattggttt tggttctaag cacaactaca aatgtgtgaa 840
aagtacaaga agctaaaaca tactgcataat caaaacttgg agtccacggc cataaatata 900

48 / 94

<210> 28

<211> 840

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (164)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,
hnh, hit, mmm, fom, or ssk"
/note=" "t" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (225)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,
hnh, hit, mmm, fom, or ssk"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (254)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,
hnh, hit, mmm, fom, or ssk"
/note=" "g" replaced with "a" "

49 / 94

<220>

<221> variation

<222> (261)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,
hnh, hit, mmm, fom, or ssk"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (268)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,
hnh, hit, mmm, fom, or ssk"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (296)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,
hnh, hit, mmm, fom, or ssk"
/note=" "t" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (326)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,
hnh, hit, mmm, fom, or ssk"

50 / 94

/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (552)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,

hnh, hit, mmm, fom, or ssk"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (667)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,

hnh, hit, mmm, fom, or ssk"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (728)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,

hnh, hit, mmm, fom, or ssk"

/note=" "g" replaced with "a" "

<400> 28

ttgaataaac catggaaaat tattacacat ataatacatt agcgaccaaa ttgtttcgcc 60
cctaactaga tgatgccccg cgctttgctg cgggatatat gttagatact ggagaaatga 120

5 1 / 9 4

acaaagatt tggattaaaa tattatgaaa atggtttgag aattagtagt tttagttttg 180
 gaatgaagta aattgtagat ataattacta tatgcttgca tgttaaactt tgtgtgctta 240
 atgggttgat gtggcatgct acatgtaagt tttaggagtg ctaataaata ctatgtttat 300
 atgttgagct ttaggtgttt agtggacatt agctttatag aaagaagaga tccctttcct 360
 ttttcaggtg attttctgtc cagtcacact cttttcatct ttttttggtt taataactct 420
 cgtggacgag aatttagagt atttaccatc caattcgtgt gcctcaactt ttttacactc 480
 aatccgtatg cctctataa tactccgtat gacattagga ctgctaacct gtcctatttg 540
 taccactttc tcagtttttg atgtatttct catttcttaa ctcaatttgt atttctttta 600
 tggcatgtg gacaatttg cccctaggcc cactgtaaga tcaaaggaag attgtcgtag 660
 gcctccgga ccttccatta taittgagag ataaagtga taattcaagt catcaaaca 720
 gcataatgaa acatccgacg cctcgagaga gaaatatgg agacattgct ggacctttag 780
 cctgccagtc aattcagcc taaaatgtgc tcgtcaaacc actcgaaggc ggcgaccaga 840

<210> 29

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 29

gcaattgccat ctggaagaat

20

5 2 / 9 4

<210> 30

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 30

taagttgggg aatgcgatgt

20

<210> 31

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 31

tctgctgcct ctgcacatac

20

5 3 / 9 4

<210> 32

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 32

aaaaacgaca ccacatcagc a

21

<210> 33

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 33

ggggcgctcc ttcaaaactt

20

5 4 / 9 4

<210> 34

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 34

ggtttggcac accacaatgg

20

<210> 35

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 35

tgcaatgtgc cattccatag

20

5 5 / 9 4

<210> 36

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 36

tatgacaagg tgggccctaa

20

<210> 37

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 37

cgccacagaa cggacaaaag

20

5 6 / 9 4

<210> 38

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 38

gaccaatcct ttgccgaagc

20

<210> 39

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 39

ccgaiggcag cacaaatctt

20

5 7 / 9 4

<210> 40

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 40

tcagtttggc ttgggtgtcc

20

<210> 41

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 41

ccattgggttg gtgtggctgt

20

58 / 94

<210> 42

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 42

tggtcgcggc tgataagcta

20

<210> 43

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 43

tgcgatggag ggagtattgg

20

59 / 94

<210> 44

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 44

tgcgagcgta caccgctagt

20

<210> 45

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 45

gcttigaggca cgtcaaaatg

20

6 0 / 9 4

<210> 46

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 46

ttccgtcgtt catgttggtc

20

<210> 47

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 47

cccacggaaa cagccaaaag

20

6 1 / 9 4

<210> 48

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 48

tgctgccatg caaagaatcg

20

<210> 49

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 49

attcgaacgg gggatccagt

20

6 2 / 9 4

<210> 50

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 50

agcggatcct gctgatgagg

20

<210> 51

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 51

gtgctgcaaa ggggagtatg

20

6 3 / 9 4

<210> 52

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 52

cgccaacctc gtaaataaaa

20

<210> 53

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 53

gaacctgagg accaagtgaag agagt

25

6 4 / 9 4

<210> 54

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 54

ctagagagga gagggagaag gagga

25

<210> 55

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 55

ataccacagg tgctgcgtga

20

6 5 / 9 4

<210> 56

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 56

tgcgcaacta gggattttcc

20

<210> 57

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 57

ccttgtggtc acacttgcgg

20

6 6 / 9 4

<210> 58

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 58

cggctcttgag gtccagggtg

20

<210> 59

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 59

tggcatcttt gcatgttgag c

21

6 7 / 9 4

<210> 60

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 60

gcatccagct gcacatttcc

20

<210> 61

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 61

gaatcggttg caggagaggg

20

6 8 / 9 4

<210> 62

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 62

gcggctatgc catgttttta cc

22

<210> 63

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 63

cgaccccatg aagcttttgc

20

69 / 94

<210> 64

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 64

aaatccacga cctccacccc t

21

<210> 65

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 65

ctccctccgc tcccagaaat

20

7 0 / 9 4

<210> 66

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 66

attttggtgg agcgtcccct

20

<210> 67

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 67

gcatggatga ccctgctaata

20

7 1 / 9 4

<210> 68

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 68

tgatgccggtt gactttttga

20

<210> 69

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 69

cttgcttggg caatcgtaaa

20

7 2 / 9 4

<210> 70

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 70

gttgctgacg cgaccagtgt

20

<210> 71

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 71

gctttccttg ttgaccact cg

22

7 3 / 9 4

<210> 72

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 72

ccattttcat gtcgtggctt g

21

<210> 73

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 73

acacaagtgt gccattttgc

20

7 4 / 9 4

<210> 74

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 74

tgccaagcta cctgagaaca

20

<210> 75

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 75

cgtgcttgga tttttgtaag c

21

7 5 / 9 4

<210> 76

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 76

gcatccagct gcacatttcc

20

<210> 77

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 77

aaattcggaa tggctagctg

20

7 6 / 9 4

<210> 78

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 78

acctccgatg attcaaccaa

20

<210> 79

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 79

caagcgaaga ctggagaggt t

21

7 7 / 9 4

<210> 80

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 80

acgtgctggc ctcctatgtt

20

<210> 81

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 81

atcaagcacg atcggaacg

20

7 8 / 9 4

<210> 82

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 82

atggccgtgg actccaagtt

20

<210> 83

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 83

gaccaaattg ttctgcccct a

21

7 9 / 9 4

<210> 84

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 84

gccttcgagt ggtttgacga

20

<210> 85

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 85

aggtcgacac ttcggccgtt

20

80 / 94

<210> 86

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 86

gaacagctgt aataagactg a

21

<210> 87

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 87

gatgcctgca aagtcccgac

20

81 / 94

<210> 88

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 88

cgcaaaccat caacttaca

20

<210> 89

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 89

cgattggcag ataaagttgg at

22

8 2 / 9 4

<210> 90

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 90

tggctagaag tagatgctgc

20

<210> 91

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 91

aaacaggatga gggaaagatg

20

8 3 / 9 4

<210> 92

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 92

gactgaaaag ttgtgtgtgt

20

<210> 93

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 93

catgaaatta ttacagaact acaga

25

8 4 / 9 4

<210> 94

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 94

agcacctccc cctcctctaa

20

<210> 95

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 95

ggaactagcc cgtgacgctc

20

8 5 / 9 4

<210> 96

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 96

gagagtcgag atgatccaaa

20

<210> 97

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 97

cagctatagc ctagcttgga

20

8 6 / 9 4

<210> 98

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 98

gaagacagct tcigcttggt tgt

23

<210> 99

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 99

aacgtcatgg acgatccgct

20

8 7 / 9 4

<210> 100

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 100

gccatgaaag cactgaaaaa

20

<210> 101

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 101

ttgagttcctt ggggatttgt

20

8 8 / 9 4

<210> 102

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 102

tggtacaagc aaagcatgag gaatg

25

<210> 103

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 103

agctcgagct cgaagatggc

20

89 / 94

<210> 104

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 104

caaacattta aaatataaat catgaata

28

<210> 105

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 105

taagcccccg gccgaaccgg caaag

25

9 0 / 9 4

<210> 106

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 106

gactacaatc ttccactcca

20

<210> 107

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 107

tgtgaactac actatttagt tgctta

26

9 1 / 9 4

<210> 108

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 108

ctgggacttg gaatgttgt t

21

<210> 109

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 109

gctaattga attagcccc ct

22

9 2 / 9 4

<210> 110

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 110

agttaaacta tatatagcat actgattc

28

<210> 111

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 111

catcttatgg tttaggagga att

23

9 3 / 9 4

<210> 112

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 112

gtctatttgg taccatttc t

21

<210> 113

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 113

accgggtagg gaaacaaaac

20

9 4 / 9 4

<210> 114

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 114

aataatactt cggcgcatcg

20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/07332

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12Q1/68, C12N15/09

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12Q1/68, C12N15/09

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
BIOSIS/WPI (DIALOG), MEDLINE (STN), JSTPlus/JST7580 (JOIS),
SwissProt/PIR/GeneSeq, GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GERMANO, J. et al., Species-specific nuclear and chloroplast single nucleotide polymorphisms to distinguish <i>Picea glauca</i> , <i>P. mariana</i> and <i>P. rubens</i> , 1999, Vol.99, pages 37 to 49	1-19
Y	GUPTA, P.K. et al., Single nucleotide polymorphisms: A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants, 2001, Vol.80, No.4, pages 524 to 535	1-19
Y	Kozo HASHIMOTO et al., "Ichienki Tagata (Single Nucleotide Polymorphisms: SNPs) Kaiseki Shuho Kaihatsu to Jutaku Kaiseki", Saibo, 2000, Vol.32, No.4, pages 152 to 155	1-19

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
04 September, 2003 (04.09.03)

Date of mailing of the international search report
16 September, 2003 (16.09.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

International application No.
PCT/JP03/07332

International application No.
PCT/JP03/07332

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Rice Genome Research Program (http://rgp.dna.affrc.go.jp/) Genome Sequencing, Chromosome 1, Clone Name:P0025A05, 21 March, 2002 (21.03.02)	1-19
P,X	NASU, S. et al., Search for and analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in rice (<i>Oryza sativa</i> , <i>Oryza rufipogon</i>) and establishment of SNP markers, DNA Res., 2002 October, Vol.9, No.5, pages 163 to 171	1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/07332

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The inventions as set forth in claims 1 to 19 relate to a method of distinguishing rice varieties by determining a base in 28 SNP sites. However, it is self-evident for a person skilled in the art to distinguish varieties with the use of SNP and thus it cannot be considered as a special technical feature. Such being the case, it does not appear that there is a technical relationship among claims 1 to 19 involving special technical features and these inventions are not considered as relating to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. Such being the case, the claimed inventions involve 28 groups of inventions, i.e., the parts in claims 1 to 9 relating to (continued to extra sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
The parts in claims 1 to 9 relating to the judgment of the base species at the 593-position in the base sequence represented by SEQ ID NO:1.

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/07332

Continuation of Box No.II of continuation of first sheet(1)

the judgment of the base species at the 593-position in the base sequence represented by SEQ ID NO:1; the parts in claims 1 to 9 relating to the judgment of the base species at the 304-position in the base sequence represented by SEQ ID NO:2; - - - ; the parts in claims 1 to 9 relating to the judgment of the base species at the 552-position in the base sequence represented by SEQ ID NO:28.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl. ⁷ C12Q1/68, C12N15/09

B. 調査を行った分野
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
- Int. Cl. ⁷ C12Q1/68, C12N15/09

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
BIOSIS/WPI (DIALOG), MEDLINE (STN), JSTPlus/JST7580 (JOIS),
SwissProt/PIR/GeneSeq, GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	GERMANO, J. et al, Species-specific nuclear and chloroplast single nucleotide polymorphisms to distinguish <i>Picea glauca</i> , <i>P. mariana</i> and <i>P. rubens</i> , 1999, Vol.99, pp.37-49	1-19
Y	GUPTA, P.K. et al., Single nucleotide polymorphisms: A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants, 2001, Vol.80, No.4, pp.524-535	1-19

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日
04.09.03

国際調査報告の発送日 16.09.03

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)
七條 里美



4B 2936

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	橋本幸蔵他, 一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphisms: SNPs) 解析手法開発と受託解析, 細胞, 2000, Vol.32, No.4, pp.152-155	1-19
Y	Rice Genome Research Program (http://rgp.dna.affrc.go.jp/) Genome Sequencing, Chromosome 1, Clone Name:P0025A05 2002.03.21	1-19
PX	NASU, S. et al., Search for and analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in rice (<i>Oryza sativa</i> , <i>Oryza rufipogon</i>) and establishment of SNP markers, DNA Res, 2002 Oct, Vol.9, No.5, pp.163-171	1-19

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1-19には、28個のSNP部位のうちいずれかの塩基を決定してイネ品種を鑑別する方法に係る発明が記載されている。しかしながら、SNPを用いて品種の鑑別ができることは、当該技術分野の専門家にとって自明のことであり、このことが、特別な技術的特徴であるとは言えない。してみると、請求の範囲1-19は、特別な技術的特徴を含む技術的な関係にあるものとはいえず、単一の一般的発明概念を形成するように連関しているものとは認められない。

したがって、本出願の請求の範囲に記載された発明には、請求の範囲1-9のうち配列番号：1に記載の塩基配列の593位における塩基種を判定することに関する部分、請求の範囲1-9のうち配列番号：2に記載の塩基配列の304位における塩基種を判定することに関する部分、・・・、請求の範囲1-9のうち配列番号：28に記載の塩基配列の552位における塩基種を判定することに関する部分の28発明が包含されている。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。
請求の範囲1-9のうち配列番号：1に記載の塩基配列の593位における塩基種を判定することに関する部分。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。